

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2003年8月21日 (21.08.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 03/068795 A1

- (51) 国際特許分類7: C07H 19/16, 19/06, 21/00
- (21) 国際出願番号: PCT/JP03/01485
- (22) 国際出願日: 2003年2月13日 (13.02.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願2002-35706 2002年2月13日 (13.02.2002) JP
- (71) 出願人および  
(72) 発明者: 今西 武 (IMANISHI,Takeshi) [JP/JP]; 〒631-0045 奈良県奈良市千代ヶ丘2丁目2-18 Nara (JP).
- (72) 発明者; および  
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 小比賀 聰 (OBIKA,Satoshi) [JP/JP]; 〒569-1022 大阪府高槻市日吉台四番町2034 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 杉本 一夫, 外 (SHAMOTO,Ichiro et al.); 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ヨーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

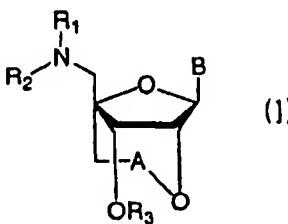
添付公開書類:

- 國際調査報告書
- 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(54) Title: NUCLEOSIDE ANALOGUES AND OLIGONUCLEOTIDE DERIVATIVE COMPRISING NUCLEOTIDE ANALOGUE THEREOF

(54) 発明の名称: ヌクレオシド類縁体およびそのヌクレオチド類縁体を含むオリゴヌクレオチド誘導体

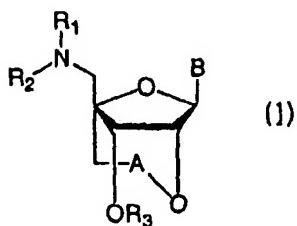


(57) Abstract: A compound represented by the general formula (1) and a salt thereof: (1) wherein A represents a direct bond,  $C_{1-4}$  alkylene, etc.; B represents an optionally substituted aromatic heterocyclic group, etc.; and R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, and R<sub>4</sub> each represents hydrogen, an amino-protecting group, a hydroxy-protecting group, a phosphate group, or -P(R<sub>7</sub>)R<sub>8</sub> (wherein R<sub>7</sub> and R<sub>8</sub> each represents hydroxy, protected hydroxy, mercapto, protected mercapto, etc.). The compound is useful as a nucleoside analogue for producing an oligonucleotide analogue useful in, e.g., the antisense method and for producing an intermediate therefor.



(57) 要約:

一般式 (1) で表される化合物及びその塩。



(式中、Aは、直接結合、炭素数1～4のアルキレン基など；Bは、置換基を有していてもよい芳香族複素環基など；R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>は、水素原子、アミノ基の保護基、水酸基の保護基、リン酸基、-P(R<sub>7</sub>)R<sub>8</sub> [式中、R<sub>7</sub>およびR<sub>8</sub>は、水酸基、保護された水酸基、メルカプト基、保護されたメルカプト基など]を示す。)

この化合物は、アンチセンス法などに有用なオリゴヌクレオチド類縁体、及びその中間体を製造するためのヌクレオシド類縁体として有用である。

明 紹 書  
ヌクレオシド類縁体およびそのヌクレオチド類縁体  
を含むオリゴヌクレオチド誘導体

5 [技術分野]

本発明は、安定で優れたアンチセンスもしくはアンチジーン活性、又は特定遺伝子の検出薬若しくは增幅開始の為のプライマーなどとして優れた活性を有し、また、各種の生理・生物活性物質類、医薬品類の材料、RNA i、デコイ用二重鎖オリゴヌクレオチドの機能性材料、cDNAなど一本鎖核酸を標的とするDNA 10 Aチップ、モレキュラービーコン (molecular beacon) などの機能性素材、様々なアンチセンス法 (リボザイム、DNAザイムを含む) やアンチジーン法用途への機能性素材、蛍光や発光物質との組合せによる生体微量成分の高感度分析用材料などとして有用な、オリゴヌクレオチド類縁体及びその製造中間体であるヌクレオシド類縁体に関する。

15 [背景技術]

1978年アンチセンス分子がインフルエンザウィルスの感染を阻害したとの報告が初めてなされた。以後、ガン遺伝子発現やAIDS感染を阻害したとの報告もなされている。アンチセンスオリゴヌクレオチドが望ましくない遺伝子の発現を特異的に制御することから、医薬品として近年、最も期待されている分野の 20 うちの一つである。

アンチセンス法とは、DNA→RNA→タンパク質という、いわゆるセントラルドグマの一連の流れをアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いて制御しようという概念に基づいている。

しかしながら、天然型オリゴヌクレオチドをアンチセンス分子としてこの方法に適用した場合、生体内の酵素により加水分解を受けたり、細胞膜透過性が高くないなどの問題が生じた。そしてこれらを解消するために核酸誘導体が数多く合成され、研究が重ねられてきた。例えば、リン原子上の酸素原子をイオウ原子に置換したホスホロチオエート、メチル基に置換したメチルホスホネート、また最

近になっては、リン原子も炭素原子で置換したものやリボースを非環式骨格にした分子も合成されている (F. Eckstein et al., Biochem., 18, 592 (1979), P.S. Miller et al., Nucleic Acids Res., 11, 5189 (1983), P. Herdewijn et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1567 (1993), 5 P.E. Nielsen et al., Science, 254, 1497 (1991))。

しかし、いずれの場合も、生体内での安定性またはオリゴヌクレオチドの合成の容易さ等の点で満足のいく誘導体が得られていない。

このような従来技術に鑑みて、生体内で細胞膜透過性が高く、酵素の加水分解を受けにくく、しかも合成が容易であり、アンチセンス法、アンチジーン法、RNAi、デコイ法などに有用なヌクレオチド類縁体が提供されることが望まれている。

#### [発明の開示]

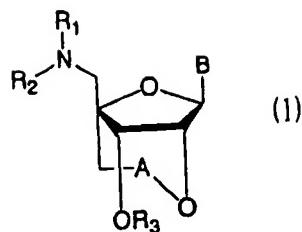
本発明の発明者等は、各種の生理・生物活性物質類、医薬品類の材料、RNAi (Nature, Vol. 411, 494-498, 2001)、デコイ用二重鎖オリゴヌクレオチドの機能性材料、cDNAなど一本鎖核酸を標的とするDNAチップ、モレキュラービーコン (molecular beacon) などの機能性素材、様々なアンチセンス法 (リボザイム、DNAザイムを含む) やアンチジーン法用途への機能性素材、蛍光や発光物質との組合せによる生体微量成分の高感度分析用材料などとして有用であろう、核酸の糖部分を修飾した核酸誘導体を設計し、それを合成してその有用性を確認した。

#### [図面の簡単な説明]

図1は天然型のオリゴヌクレオチドをエキソヌクレアーゼで分解した時の紫外部吸収 (260 nm) の経時変化を示すグラフで、時間 (分) に対して (% of (10mer+9mer) ODN) プロットしたものである。

#### [発明を実施するための形態]

25 本発明のヌクレオシド類縁体は、下記一般式 (1) で表される化合物及びその塩。

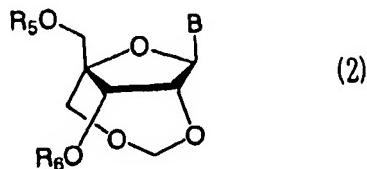


5 (式中、Aは、直接結合、炭素数1～4のアルキレン基、 $-\text{O}- (\text{CH}_2)_m-$ （ここで、酸素原子は4'位のメチレン基と結合している。mは1～3の整数を示す。）、または、 $-\text{N}(\text{R}_4)- (\text{CH}_2)_n-$ （ここで、窒素原子は4'位のメチレン基と結合している。nは1～3の整数を示す。）を示す。

Bは、置換基を有していてもよい芳香族複素環基もしくは芳香族炭化水素環基を示す。

R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>は、同一又は異なって、水素原子、核酸合成の水酸基の保護基、アルキル基、アルケニル基、シクロアルキル基、アラルキル基、アリール基、アシル基、シリル基、リン酸基、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基、 $-\text{P}(\text{R}_7)\text{R}_8$  [式中、R<sub>7</sub>およびR<sub>8</sub>は、同一または異なって、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、アミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、炭素数1～6のシアノアルコキシ基、または、炭素数1～5のアルキル基で置換されたアミノ基を示す。]を示す。)である。

また、本発明のヌクレオシド類縁体は、下記一般式(2)で表される化合物及びその塩。



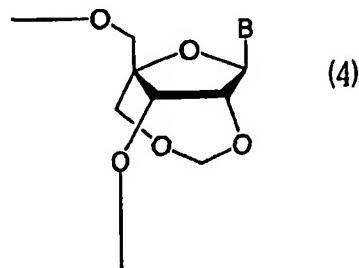
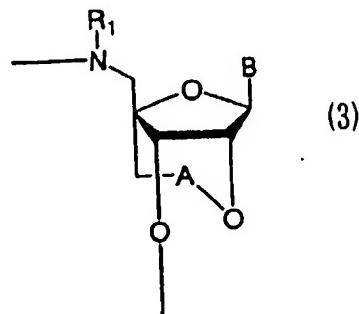
25

(式中、Bは、置換基を有していてもよい芳香族複素環基もしくは芳香族炭化水素環基を示す。

R<sub>5</sub>及びR<sub>6</sub>は、同一又は異なって、水素原子、核酸合成の水酸基の保護基、アル

キル基、アルケニル基、シクロアルキル基、アラルキル基、アリール基、アシリル基、シリル基、リン酸基、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基、 $-P(R_9)$   
 $R_{10}$  [式中、 $R_9$ および $R_{10}$ は、同一または異なって、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカブト基、アミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、炭素数1～6のシアノアルコキシ基、または、炭素数1～5のアルキル基で置換されたアミノ基を示す。] を示す。) である。

本発明のヌクレオチド類縁体は、下記一般式(3)または(4)で表される構造のいずれか1種以上を1または2個以上含有するオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩である。但し、これら構造の1種以上を2個以上含有する場合は、当該構造間でBは同一または異なる。



25 (式中、Aは、直接結合、炭素数1～4のアルキレン基、 $-O-(CH_2)_m-$ （ここで、酸素原子は4'位のメチレン基と結合している。mは1～3の整数を示す。）、または、 $-N(R_4)-(CH_2)_n-$ （ここで、窒素原子は4'位のメチレン基と結合している。nは1～3の整数を示す）を示す。

Bは、置換基を有していてもよい芳香族複素環基もしくは芳香族炭化水素環基を示す。

R<sub>1</sub>、及びR<sub>4</sub>は、同一又は異なって、水素原子、核酸合成の水酸基の保護基、アルキル基、アルケニル基、シクロアルキル基、アラルキル基、アリール基、アシリル基、シリル基、リン酸基、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基、または、  
5 -P(R<sub>7</sub>)R<sub>8</sub> [式中、R<sub>7</sub>およびR<sub>8</sub>は、同一または異なって、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、アミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキ  
10 ルチオ基、炭素数1～6のシアノアルコキシ基、または、炭素数1～5のアルキル基で置換されたアミノ基を示す]。を示す。)

本発明において、一般式(1)または(3)中、Aの「炭素数1～4のアルケン基」としては、例えば、メチレン、エチレン、トリメチレン、テトラメチレン基が挙げられる。好適には、メチレン基である。

一般式(1)または(3)中、Aの-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-としては、m=1、即ち、  
15 -O-CH<sub>2</sub>-が好適である。

一般式(1)または(3)中、Aの-N(R<sub>4</sub>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-としては、n=1、即ち、-N(R<sub>4</sub>)-CH<sub>2</sub>-が好適である。R<sub>4</sub>としては、水素原子、低級アルキル基が好適である。

一般式(1)または(3)中、Aとしては、好適には、直接結合、-O-CH<sub>2</sub>-である。  
20

一般式(1)～(4)中、Bの芳香族複素環基とは、炭化水素環の構成原子である炭素原子を、1個以上の窒素原子、硫黄原子もしくは酸素原子などのヘテロ原子に置き換えた構造を有し、芳香族性を示す5～20員環のあらゆる基をいい、单環、縮合環を含む。具体的には、例えば、ピリミジンもしくはプリン核酸塩基、  
25 以下のα群から選択される置換基を1つ以上有していてもよいピリミジンもしくはプリン核酸塩基が挙げられる。ここで、ピリミジンもしくはプリン核酸塩基には、核酸の構成成分として一般に知られる塩基(例えば、グアニン、アデニン、シトシン、チミン、ウラシル)、及びその他これらに類する核酸成分の塩基として

作用もしくは代用し得るあらゆる化学構造が含まれる。その他、チオフェン、チアントレン、フラン、ピラン、イソベンゾフラン、クロメン、キサンテン、フェノキサチイン、ピロール、イミダゾール、ピラゾール、イソチアゾール、イソキサゾール、ピリダジン、インドリジン、インドール、イソインドール、イソキノリン、キノリン、ナフチリジン、キノキサリン、キナゾリン、プテリジン、カルバゾール、フェナントリジン、アクリジン、ペリミジン、フェナジン、フェナルサジン、フェノチアジン、フラザン、フェノキサジン、ピロリジン、ピロリン、イミダゾリジン、イミダゾリン、ピラゾリジンなども含まれる。好適には、ピリミジンもしくはプリン核酸塩基、以下の $\alpha$ 群から選択される置換基を1つ以上有していてもよいピリミジンもしくはプリン核酸塩基であり、具体的には、プリン-9-イル基、2-オキソーピリミジン-1-イル基、または下記 $\alpha$ 群から選択される置換基を有するプリン-9-イル基もしくは2-オキソーピリミジン-1-イル基が好適である。

$\alpha$ 群：水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、炭素数1～5のアルコキシ基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、炭素数1～5のアルキルチオ基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、炭素数1～5のアルキル基で置換されたアミノ基、炭素数1～5のアルキル基、および、ハロゲン原子。

ここで、「置換基を有していてもよいプリン核酸塩基」として好適な基は、6-アミノプリン-9-イル（即ち、アデニニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2-, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル（即ち、グアニニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-ア

ミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプロリン-2-イル又は6-メルカプトプリン-9-イル基であり、さらに好適には、6-ベンゾイルアミノプリン-9-イル、アデニニル、2-イソブチリルアミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル又はグアニニル基である。  
5

また、「置換基を有していてもよいピリミジン核酸塩基」として好適な基は、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、シトシニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-1, 2-10  
-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、ウラシニル）、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、チミニル）または4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、5-メチルシトシニル）基であり、  
15  
さらに好適には、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、シトシニル、チミニル、ウラシニル、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、又は5-メチルシトシニル基である。

「置換基を有していてもよいプリンもしくはピリミジン核酸塩基」の中で、さら  
25  
に好適には、6-アミノプリン-9-イル（即ち、アデニニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ

－6－フルオロプリン－9－イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2－アミノ－6－フルオロプリン－9－イル、2－アミノ－6－ブロモプリン－9－イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2－アミノ－6－ブロモプリン－9－イル、2－アミノ－6－ヒドロキシプリン－9－イル（即ち、グアニニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2－アミノ－6－ヒドロキシプリン－9－イル、6－アミノ－2－メトキシプリン－9－イル、6－アミノ－2－クロロプリン－9－イル、6－アミノ－2－フルオロプリン－9－イル、2，6－ジメトキシプリン－9－イル、2，6－ジクロロプリン－9－イル、6－メルカプトプリン－9－イル、2－オキソ－4－アミノ－1，2－ジヒドロピリミジン－1－イル（即ち、シトシニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2－オキソ－4－アミノ－1，2－ジヒドロピリミジン－1－イル、2－オキソ－4－アミノ－5－フルオロ－1，2－ジヒドロピリミジン－1－イル、4－アミノ－2－オキソ－5－クロロ－1，2－ジヒドロピリミジン－1－イル、2－オキソ－4－メトキシ－1，2－ジヒドロピリミジン－1－イル、2－オキソ－4－ヒドロキシ－1，2－ジヒドロピリミジン－1－イル（即ち、ウラシニル）、2－オキソ－4－ヒドロキシ－5－メチル－1，2－ジヒドロピリミジン－1－イル（即ち、チミニル）、4－アミノ－5－メチル－2－オキソ－1，2－ジヒドロピリミジン－1－イル（即ち、5－メチルシトシニル）、または、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4－アミノ－5－メチル－2－オキソ－1，2－ジヒドロピリミジン－1－イルである。

一般式（1）～（4）中、Bの芳香族炭化水素環基とは、炭素数6～20の芳香族性を示す炭化水素環から水素原子1個を除いた1価の置換基を意味し、単環、縮合環を含む。具体的には、例えば、フェニル、インデニル、ナフチル、ペンタレニル、アズレニル、ヘプタレニル、ビフェニレニル、インダセニル、フルオレニル、フェナントリル、アントリルなどが挙げられるが、その他本発明の目的において核酸成分の塩基部分として代用可能なあらゆる構造が含まれる。また、芳

香族炭化水素環が、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、ハロゲン原子、低級アルキル基、アルコキシ基、カルボキシリ基、アリールオキシ基、ニトロ基、トリフルオロメチル、フェニル基等の1種以上の基によって置換されていてもよく、そのような置換されていてもよい芳香族炭化水素基としては、例えば、4-ヒドロキシフェニル、2-ヒドロキシフェニル、4-アミノフェニル、2-アミノフェニル、2-メチルフェニル、2, 6-ジメチルフェニル、2-クロロフェニル、4-クロロフェニル、2, 4-ジクロロフェニル、2, 5-ジクロロフェニル、2-ブロモフェニル、4-メトキシフェニル、4-クロロ-2-ニトロフェニル、4-ニトロフェニル、2, 4-ジニトロフェニル、ピフェニルなどが挙げられる。置換されていてもよい芳香族炭化水素環基としては、好適には、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、低級アルコキシ基もしくはニトロ基で置換されたフェニル基、フェニル基などが挙げられる。

一般式(1)～(3)中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>の「核酸合成のアミノ基の保護基」および「核酸合成の水酸基の保護基」、R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub>、R<sub>9</sub>、R<sub>10</sub>、並びに及び $\alpha$ 群の「核酸合成の保護基で保護された水酸基」の保護基とは、核酸合成の際に安定してアミノ基または水酸基を保護し得るものであれば、特に制限はないが、具体的には、酸性又は中性条件で安定であり、加水素分解、加水分解、電気分解及び光分解のような化学的方法により開裂し得る保護基のことをいい、そのような保護基としては、例えば、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ビバロイル、バレリル、イソバレリル、オクタノイル、ノナノイル、デカノイル、3-メチルノナノイル、8-メチルノナノイル、3-エチルオクタノイル、3, 7-ジメチルオクタノイル、ウンデカノイル、ドデカノイル、トリデカノイル、テトラデカノイル、ペンタデカノイル、ヘキサデカノイル、1-メチルペンタデカノイル、14-メチルペンタデカノイル、13, 13-ジメチルテトラデカノイル、ヘプタデカノイル、15-メチルヘキサデカノイル、オクタデカノイル、1-メチルヘプタデカノイル、ノナデカ

ノイル、アイコサノイル及びヘナイコサノイルのようなアルキルカルボニル基、スクシノイル、グルタロイル、アジポイルのようなカルボキシ化アルキルカルボニル基、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリクロロアセチル、トリフルオロアセチルのようなハロゲノ低級アルキルカルボニル基、メトキシアセチルのよ  
5 うな低級アルコキシ低級アルキルカルボニル基、(E)-2-メチル-2-ブテノイルのような不飽和アルキルカルボニル基のような「脂肪族アシル基」；メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、s-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、2-メチルブチル、ネオペンチル、1-エチルプロピル、n-ヘキシル、イソヘキシル、4-メチルペンチル、  
10 3-メチルペンチル、2-メチルペンチル、1-メチルペンチル、3, 3-ジメチルブチル、2, 2-ジメチルブチル、1, 1-ジメチルブチル、1, 2-ジメチルブチル、1, 3-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、2-エチルブチルのような「低級アルキル基」；エテニル、1-プロペニル、2-プロペニル、1-メチル-2-プロペニル、1-メチル-1-プロペニル、2-メチル-1-プロペニル、2-メチル-2-プロペニル、2-エチル-2-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、1-メチル-2-ブテニル、1-メチル-1-ブテニル、3-メチル-2-ブテニル、1-エチル-2-ブテニル、3-ブテニル、1-メチル-3-ブテニル、2-メチル-3-ブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、1-メチル-2-ペンテニル、2-メチル-2-ペンテニル、3-ペンテニル、1-メチル-3-ペンテニル、2-メチル-3-ペンテニル、4-ペンテニル、1-メチル-4-ペンテニル、2-メチル-4-ペンテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、4-ヘキセニル、5-ヘキセニルのような「低級アルケニル基」；ベンゾイル、α-ナフトイル、β-ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2-プロモベンゾイル、4-クロロベンゾイルのようなハロゲノアリールカルボニル基、2, 4, 6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-アニソイルのような低級アルコキシ化アリールカルボニル基、2-カルボキシベンゾイル、3-カルボキシベンゾイル、4-カルボキシベンゾイル

ルのようなカルボキシ化アリールカルボニル基、4-ニトロベンゾイル、2-ニトロベンゾイルのようなニトロ化アリールカルボニル基；2-(メトキシカルボニル)ベンゾイルのような低級アルコキシカルボニル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基のような「芳香族アシル基」；テトラヒドロピラン-2-イル、3-プロモテトラヒドロピラン-2-イル、4-メトキシテトラヒドロピラン-4-イル、テトラヒドロチオピラン-4-イル、4-メトキシテトラヒドロチオピラン-4-イルの「テトラヒドロピラニル又はテトラヒドロチオピラニル基」；テトラヒドロフラン-2-イル、テトラヒドロチオフラン-2-イルのような「テトラヒドロフラニル又はテトラヒドロチオフラニル基」；トリメチルシリル、トリエチルシリル、イソプロピルジメチルシリル、*t*-ブチルジメチルシリル、メチルジイソプロピルシリル、メチルジー*t*-ブチルシリル、トリイソプロピルシリルのようなトリ低級アルキルシリル基、ジフェニルメチルシリル、ジフェニルブチルシリル、ジフェニルイソプロピルシリル、フェニルジイソプロピルシリルのような1~2個のアリール基で置換されたトリ低級アルキルシリル基のような「シリル基」；メトキシメチル、1,1-ジメチル-1-メトキシメチル、エトキシメチル、プロポキシメチル、イソプロポキシメチル、ブトキシメチル、*t*-ブトキシメチルのような「低級アルコキシメチル基」；2-メトキシエトキシメチルのような「低級アルコキシ化低級アルコキシメチル基」；2,2,2-トリクロロエトキシメチル、ビス(2-クロロエトキシ)メチルのような「ハロゲノ低級アルコキシメチル基」；1-エトキシエチル、1-(イソプロポキシ)エチルのような「低級アルコキシ化エチル基」；2,2,2-トリクロロエチルのような「ハロゲン化エチル基」；ベンジル、 $\alpha$ -ナフチルメチル、 $\beta$ -ナフチルメチル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、 $\alpha$ -ナフチルジフェニルメチル、9-アンスリルメチルのような「1~3個のアリール基で置換されたメチル基」；4-メチルベンジル、2,4,6-トリメチルベンジル、3,4,5-トリメチルベンジル、4-メトキシベンジル、4-メトキシフェニルジフェニルメチル、4,4'-ジメトキシトリフェニルメチル、2-ニトロベンジル、4-ニトロベンジル、4-クロロベンジル、4-プロモベンジ

ル、4-シアノベンジルのような「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基」；メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、*t*-ブロキシカルボニル、イソブロキシカルボニルのような「低級アルコキシカルボニル基」；4-クロロフェニル、2-フロロフェニル、4-メトキシフェニル、4-ニトロフェニル、2,4-ジニトロフェニルのような「ハロゲン原子、低級アルコキシ基又はニトロ基で置換されたアリール基」；2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、2-トリメチルシリルエトキシカルボニルのような「ハロゲン又はトリ低級アルキルシリル基で置換された低級アルコキシカルボニル基」；ビニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニルのような「アルケニルオキシカルボニル基」；ベンジルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、3,4-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、2-ニトロベンジルオキシカルボニル、4-ニトロベンジルオキシカルボニルのような1～2個の「低級アルコキシ又はニトロ基でアリール環が置換されていてもよいアラルキルオキシカルボニル基」を挙げることができ、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>およびR<sub>6</sub>の「核酸合成の水酸基の保護基」においては、好適には、「脂肪族アシル基」、「芳香族アシル基」、「1～3個のアリール基で置換されたメチル基」、「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基」又は「シリル基」であり、さらに好適には、アセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、*p*-メトキシベンゾイル基、ジメトキシトリチル基、モノメトキシトリチル基又は*t*er*t*-ブチルジフェニルシリル基であり、R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub>、R<sub>9</sub>、及びR<sub>10</sub>又はα群の「核酸合成の保護基で保護された水酸基」の保護基においては、好適には、「脂肪族アシル基」、「芳香族アシル基」、「1～3個のアリール基で置換されたメチル基」、「ハロゲン原子、低級アルコキシ基又はニトロ基で置換されたアリール基」、「低級アルキル基」又は「低級アルケニル基」であり、さらに好適には、ベンゾイル基、ベンジル基、2-クロロフェニル基、4-クロロフェニル基又は2-プロペニル基である。

一般式(1)～(3)中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>およびR<sub>6</sub>の「アルキル基」

とは、炭素数 1～20 の直鎖または分岐鎖状のアルキル基を示し、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、s-ブチル、t-e  
 5 r-t-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、2-メチルブチル、ネオペンチル、  
 1-エチルプロピル、n-ヘキシル、イソヘキシル、4-メチルペンチル、3-  
 10 メチルペンチル、2-メチルペンチル、1-メチルペンチル、3, 3-ジメチル  
 ブチル、2, 2-ジメチルブチル、1, 1-ジメチルブチル、1, 2-ジメチル  
 ブチル、1, 3-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、2-エチルブチル  
 のような炭素数 1～6 の直鎖または分岐鎖状のアルキル基(本明細書においては、  
 これらを低級アルキル基とも称す。)の他、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル  
 15 など炭素数 7～20 の直鎖または分岐鎖状のアルキル基が含まれ、好適には、上  
 記の炭素数 1～6 の直鎖または分岐鎖状のアルキル基である。

一般式 (1)～(3) 中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub> および R<sub>6</sub> の「アルケニル  
 基」とは、炭素数 2～20 の直鎖または分岐鎖状のアルケニル基を示し、エテニ  
 尔、1-プロペニル、2-プロペニル、1-メチル-2-プロペニル、1-メチ  
 15 ル-1-プロペニル、2-メチル-1-プロペニル、2-メチル-2-プロペニ  
 尔、2-エチル-2-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、1-メチル-  
 2-ブテニル、1-メチル-1-ブテニル、3-メチル-2-ブテニル、1-エ  
 チル-2-ブテニル、3-ブテニル、1-メチル-3-ブテニル、2-メチル-  
 20 3-ブテニル、1-エチル-3-ブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、  
 1-メチル-2-ペンテニル、2-メチル-2-ペンテニル、3-ペンテニル、  
 1-メチル-3-ペンテニル、2-メチル-3-ペンテニル、4-ペンテニル、  
 1-メチル-4-ペンテニル、2-メチル-4-ペンテニル、1-ヘキセニル、  
 2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、4-ヘキセニル、5-ヘキセニルのよう  
 25 な炭素数 2～6 の直鎖または分岐鎖状のアルケニル基(本明細書においては、これら  
 を低級アルケニル基とも称す。)の他、ゲラニル、ファルネシルなどが含まれ、好  
 適には、上記の炭素数 2～6 の直鎖または分岐鎖状のアルケニル基である。

一般式 (1)～(3) 中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub> および R<sub>6</sub> の「シクロアル  
 キル基」とは、炭素数 3～10 のシクロアルキル基を示し、シクロプロピル、シ

クロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシリ、シクロヘプチル、シクロオクチル、ノルボルニル、アダマンチルなどが挙げられ、好適には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシリ、シクロヘプチル、シクロオクチルなどの炭素数3～8のシクロアルキル基である。また、「シクロアルキル基」  
5には、上記シクロアルキル基の環上の1つ以上のメチレンが酸素原子や硫黄原子、あるいはアルキル基で置換された窒素原子に置換された複素環基も含まれ、例えば、テトラヒドロピラニルなどが挙げられる。

一般式(1)～(3)中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>およびR<sub>6</sub>の「アリール基」とは、芳香族炭化水素基から水素原子1個を除いた炭素数6～14の1価の置換  
10基を意味し、例えば、フェニル、インデニル、ナフチル、フェナンスレニル、アントラセニルなどが挙げられる。また、アリール環が、ハロゲン原子、低級アルキル基、水酸基、アルコキシ基、アリールオキシ基、アミノ基、ニトロ基、トリフルオロメチル、フェニル基等の1種以上の基によって置換されていてもよく、  
15そのような置換されていてもよいアリール基としては、例えば、2-メチルフェニル、2, 6-ジメチルフェニル、2-クロロフェニル、4-クロロフェニル、  
2, 4-ジクロロフェニル、2, 5-ジクロロフェニル、2-プロモフェニル、  
4-メトキシフェニル、4-クロロ-2-ニトロフェニル、4-ニトロフェニル、  
2, 4-ジニトロフェニル、ピフェニルなどが挙げられる。好適には、ハロゲン  
20原子、低級アルコキシ基ニトロ基で置換されたフェニル基、フェニル基などが挙  
げられる。

一般式(1)～(3)中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>およびR<sub>6</sub>の「アラルキル基」とは、アリール基で置換された炭素数1～6のアルキル基を意味し、ベンジル、α-ナフチルメチル、β-ナフチルメチル、インデニルメチル、フェナンスレニルメチル、アントラセニルメチル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、  
25α-ナフチルジフェニルメチル、9-アンスリルメチルのような「1～3個のアリール基で置換されたメチル基」や、4-メチルベンジル、2, 4, 6-トリメチルベンジル、3, 4, 5-トリメチルベンジル、4-メトキシベンジル、4-メトキシフェニルジフェニルメチル、4, 4'-ジメトキシトリフェニルメチル、

2-ニトロベンジル、4-ニトロベンジル、4-クロロベンジル、4-ブロモベンジル、4-シアノベンジルのような「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基」の他、1-フェネチル、2-フェネチル、1-ナフチルエチル、2-ナフチルエチル、1-フェニルプロピル、2-フェニルプロピル、3-フェニルプロピル、1-ナフチルプロピル、2-ナフチルプロピル、3-ナフチルプロピル、1-フェニルブチル、2-フェニルブチル、3-フェニルブチル、4-フェニルブチル、1-ナフチルブチル、2-ナフチルブチル、3-ナフチルブチル、4-ナフチルブチル、1-フェニルペンチル、2-フェニルペンチル、3-フェニルペンチル、4-フェニルペンチル、5-フェニルペンチル、1-ナフチルペンチル、2-ナフチルペンチル、3-ナフチルペンチル、4-ナフチルペンチル、5-ナフチルペンチル、1-フェニルヘキシリ、2-フェニルヘキシリ、3-フェニルヘキシリ、4-フェニルヘキシリ、5-フェニルヘキシリ、6-フェニルヘキシリ、1-ナフチルペンチル、2-ナフチルペンチル、3-ナフチルペンチル、4-ナフチルペンチル、5-ナフチルペンチル、6-ナフチルペンチル、などの「アリール基で置換された炭素数3～6のアルキル基」などが含まれる。好適には、「1～3個のアリール基で置換されたメチル基」、「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基」であり、さらに好適には、4-メトキシフェニルジフェニルメチル、4,4-ジメトキシトリフェニルメチルである。

一般式(1)～(3)中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>およびR<sub>6</sub>の「アシル基」としては、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ピバロイル、バレリル、イソバレリル、オクタノイル、ノナノイル、デカノイル、3-メチルノナノイル、8-メチルノナノイル、3-エチルオクタノイル、3,7-ジメチルオクタノイル、ウンデカノイル、ドデカノイル、トリデカノイル、テトラデカノイル、ペンタデカノイル、ヘキサデカノイル、1-メチルペンタデカノイル、14-メチルペンタデカノイル、13,13-ジメチルテトラデカノイル、ヘプタデカノイル、15-メチルヘキサデカノイル、オクタ

デカノイル、1-メチルヘプタデカノイル、ノナデカノイル、アイコサノイル及びヘナイコサノイルのようなアルキルカルボニル基、スクシノイル、グルタロイル、アジポイルのようなカルボキシ化アルキルカルボニル基、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリクロロアセチル、トリフルオロアセチルのようなハロゲノ低級アルキルカルボニル基、メトキシアセチルのような低級アルコキシ低級アルキルカルボニル基、(E)-2-メチル-2-ブテノイルのような不飽和アルキルカルボニル基のような「脂肪族アシリル基」、およびベンゾイル、 $\alpha$ -ナフトイル、 $\beta$ -ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2-プロモベンゾイル、4-クロロベンゾイルのようなハロゲノアリールカルボニル基、2, 4, 6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-アニソイルのような低級アルコキシ化アリールカルボニル基、2-カルボキシベンゾイル、3-カルボキシベンゾイル、4-カルボキシベンゾイルのようなカルボキシ化アリールカルボニル基、4-ニトロベンゾイル、2-ニトロベンゾイルのようなニトロ化アリールカルボニル基；2-(メトキシカルボニル)ベンゾイルのような低級アルコキシカルボニル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基のような「芳香族アシリル基」が挙げられ、好適には、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペントノイル、ピバロイル、ベンゾイル基である。

一般式(1)～(3)中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>およびR<sub>6</sub>の「シリル基」としては、トリメチルシリル、トリエチルシリル、イソプロピルジメチルシリル、t-ブチルジメチルシリル、メチルジイソプロピルシリル、メチルジ-t-ブチルシリル、トリイソプロピルシリルのような「トリ低級アルキルシリル基」、ジフェニルメチルシリル、ブチルジフェニルブチルシリル、ジフェニルイソプロピルシリル、フェニルジイソプロピルシリルのような「1～2個のアリール基で置換されたトリ低級アルキルシリル基」などが挙げられ、好適には、トリメチルシリル、トリエチルシリル、トリイソプロピルシリル、t-ブチルジメチルシリル、t-ブチルジフェニルシリルであり、さらに好適にはトリメチルシリルである。一般式(1)～(3)中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>およびR<sub>6</sub>の「核酸合成の

保護基で保護されたリン酸基」の「保護基」とは、核酸合成の際に安定してリン酸基を保護し得るものであれば、特に限定はないが、具体的には、酸性又は中性条件で安定であり、加水素分解、加水分解、電気分解及び光分解のような化学的方法により開裂し得る保護基のことをいい、そのような保護基としては、例えば、

5 メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、s-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、2-メチルブチル、ネオペンチル、1-エチルプロピル、n-ヘキシル、イソヘキシル、4-メチルペンチル、3-メチルペンチル、2-メチルペンチル、1-メチルペンチル、3, 3-ジメチルブチル、2, 2-ジメチルブチル、1, 1-ジメチルブチル、1, 10 2-ジメチルブチル、1, 3-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、2-エチルブチルのような「低級アルキル基」；2-シアノエチル、2-シアノ-1, 1-ジメチルエチルのような「シアノ化低級アルキル基」；2-メチルジフェニルシリルエチル、2-トリメチルシリルエチル、2-トリフェニルシリルエチルのような「シリル基で置換されたエチル基」；2, 2, 2-トリクロロエチル、2, 15 2, 2-トリブロモエチル、2, 2, 2-トリフルオロエチル、2, 2, 2-トリクロロ-1, 1-ジメチルエチルのような「ハロゲン化低級アルキル基」；エテニル、1-プロペニル、2-プロペニル、1-メチル-2-プロペニル、1-メチル-1-プロペニル、2-メチル-2-プロペニル、2-エチル-2-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、1-メチル-2-ブテニル、1-メチル-1-ブテニル、3-メチル-2-ブテニル、1-メチル-3-ブテニル、2-メチル-3-ブテニル、1-エチル-2-ブテニル、3-ブテニル、1-メチル-3-ブテニル、2-メチル-3-ブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、1-メチル-2-ペンテニル、2-メチル-2-ペンテニル、3-メチル-3-ペンテニル、4-ペンテニル、1-メチル-4-ペンテニル、25 2-メチル-4-ペンテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、4-ヘキセニル、5-ヘキセニルのような「低級アルケニル基」；シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、ノルボルニル、アダマンチルのような「シクロアルキル基」；2-シアノブテニルのよ

うな「シアノ化低級アルケニル基」；ベンジル、 $\alpha$ -ナフチルメチル、 $\beta$ -ナフチルメチル、インデニルメチル、フェナンスレニルメチル、アントラセニルメチル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、1-フェネチル、2-フェネチル、1-ナフチルエチル、2-ナフチルエチル、1-フェニルプロピル、2-フェニルプロピル、3-フェニルプロピル、1-ナフチルプロピル、2-ナフチルプロピル、3-ナフチルプロピル、1-フェニルブチル、2-フェニルブチル、3-フェニルブチル、4-フェニルブチル、1-ナフチルブチル、2-ナフチルブチル、3-ナフチルブチル、4-ナフチルブチル、1-フェニルペンチル、2-フェニルペンチル、3-フェニルペンチル、4-フェニルペンチル、5-フェニルペンチル、1-ナフチルペンチル、2-ナフチルペンチル、3-ナフチルペンチル、4-ナフチルペンチル、5-ナフチルペンチル、1-（4-ナフチルペンチル）エチル、0-ニトロベンジル、4-ニトロベンジル、2，4-ジニトロベンジル、4-クロロ-2-ニトロベンジルのような「ニトロ基、ハロゲン原子でアリール環が置換されたアラルキル基」；フェニル、インデニル、ナフチル、フェナンスレニル、アントラセニルのような「アリール基」；2-メチルフェニル、2，6-ジメチルフェニル、2-クロロフェニル、4-クロロフェニル、2，4-ジクロロフェニル、2，5-ジクロロフェニル、2-ブロモフェニル、4-ニトロフェニル、4-クロロ-2-ニトロフェニルのような「低級アルキル基、ハロゲン原始、ニトロ基で置換されたアリール基」を挙げることができ、好適には「低級アルキル基」、「シアノ基で置換された低級アルキル基」、「アラルキル基」、「ニトロ基、ハロゲン原子でアリール環が置換されたアラルキル基」または「低級アルキル基、ハロゲン原子、ニトロ基で置換されたアリール基」であり、さらに好適には、2-シアノエチル基、2，2，2-トリクロロエチル基、ベンジル基、2-クロロフェニル基または4-クロロフェニル基である。

- 一般式(1)～(3)中、R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub>、R<sub>9</sub>及びR<sub>10</sub>並びにα群の「核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基」の保護基としては、核酸合成の際に安定してメルカプト基を保護し得るものであれば、特に限定はないが、具体的には、酸性又は中性条件で安定であり、加水素分解、加水分解、電気分解及び光分解のような化学的方法により開裂し得る保護基をいい、例えば、上記水酸基の保護基として挙げたものの他、メチルチオ、エチルチオ、tert-ブチルチオのようなアルキルチオ基、ベンジルチオのようなアリールチオ基等の「ジスルフィドを形成する基」を挙げることができ、好適には、「脂肪族アシル基」又は「芳香族アシル基」であり、さらに好適には、ベンゾイル基である。
- 一般式(1)～(3)中、R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub>、R<sub>9</sub>及びR<sub>10</sub>並びにα群の「炭素数1～5のアルコキシ基」としては、例えば、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、イソプロポキシ、n-ブトキシ、イソブトキシ、s-ブトキシ、tert-ブトキシ、n-ペントキシを挙げることができ、好適には、メトキシ又はエトキシ基である。
- 一般式(1)～(3)中、R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub>、R<sub>9</sub>及びR<sub>10</sub>並びにα群の「炭素数1～5のアルキルチオ基」としては、例えば、メチルチオ、エチルチオ、プロピルチオ、イソプロピルチオ、ブチルチオ、イソブチルチオ、s-ブチルチオ、tert-ブチルチオ、n-ペンチルチオを挙げることができ、好適には、メチルチオ又はエチルチオ基である。
- 一般式(1)～(3)中、R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub>、R<sub>9</sub>及びR<sub>10</sub>の「炭素数1～6のシアノアルコキシ基」とは、上記「炭素数1～5のアルコキシ基」のシアノ基が置換した基をいい、そのような基としては、例えば、シアノメトキシ、2-シアノエトキシ、3-シアノプロポキシ、4-シアノブトキシ、3-シアノ-2-メチルプロポキシ、又は1-シアノメチル-1,1-ジメチルメトキシを挙げることができ、好適には、2-シアノエトキシ基である。
- 一般式(1)～(3)中、R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub>、R<sub>9</sub>及びR<sub>10</sub>並びにα群の「炭素数1～5のアルキル基で置換されたアミノ基」としては、例えば、メチルアミノ、エチルアミノ、プロピルアミノ、イソプロピルアミノ、ブチルアミノ、イソブチルアミ

ノ、s-ブチルアミノ、tert-ブチルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ、ジプロピルアミノ、ジイソプロピルアミノ、ジブチルアミノ、ジイソブチルアミノ、ジ(s-ブチル)アミノ、ジ(tert-ブチル)アミノを挙げることができ、好適には、メチルアミノ、エチルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノまたはジイソプロピルアミノ基である。

5 α群の「炭素数1～5のアルキル基」としては、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、s-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチルなどを挙げることができ、好適には、メチル又はエチル基である。

10 α群の「ハロゲン原子」としては、例えば、フッ素原子、塩素原子、臭素原子又はヨウ素原子を挙げることができ、好適には、フッ素原子又は塩素原子である。

「ホスホロアミダイト基」とは、式-P(O R<sub>3a</sub>)(N R<sub>3b</sub>)で表される基（式中、R<sub>3a</sub>は炭素数1～のアルキル基又は炭素数1～7のシアノアルキル基を示し、R<sub>3b</sub>は炭素数1～6のアルキル基を示す。）を意味し、好適には、式-P(O C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>CN)(N(iPr)<sub>2</sub>)で表される基又は式-P(OCH<sub>3</sub>)(N(iPr)<sub>2</sub>)で表される基である。

15 α群の「核酸合成の保護基で保護されたアミノ基」の保護基としては、核酸合成の際に安定してアミノ基を保護し得るものであれば、特に限定はないが、具体的には、酸性又は中性条件で安定であり、加水素分解、加水分解、電気分解及び光分解のような化学的方法により開裂し得る保護基をいい、例えば、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ピバロイル、バレリル、イソバレリル、オクタノイル、ノナノイル、デカノイル、3-メチルノナノイル、8-メチルノナノイル、3-エチルオクタノイル、3,7-ジメチルオクタノイル、ウンデカノイル、ドデカノイル、トリデカノイル、テトラデカノイル、ペンタデカノイル、ヘキサデカノイル、1-メチルペンタデカノイル、14-メチルペンタデカノイル、13,13-ジメチルテトラデカノイル、ヘプタデカノイル、15-メチルヘキサデカノイル、オクタデカノイル、1-メチルヘプタデカノイル、ノナデカノイル、ノナデカノイル、アイコサノイル及びヘナ

イコサノイルのようなアルキルカルボニル基、スクシノイル、グルタロイル、アジポイルのようなカルボキシ化アルキルカルボニル基、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリクロロアセチル、トリフルオロアセチルのようなハロゲノ低級アルキルカルボニル基、メトキシアセチルのような低級アルコキシ低級アルキルカルボニル基、(E)-2-メチル-2-ブテノイルのような不飽和アルキルカルボニル基等の「脂肪族アシリル基」；ベンゾイル、 $\alpha$ -ナフトイル、 $\beta$ -ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2-プロモベンゾイル、4-クロロベンゾイルのようなハロゲノアリールカルボニル基、2, 4, 6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-アニソイルのような低級アルコキシ化アリールカルボニル基、2-カルボキシベンゾイル、3-カルボキシベンゾイル、4-カルボキシベンゾイルのようなカルボキシ化アリールカルボニル基、4-ニトロベンゾイル、2-ニトロベンゾイルのようなニトロ化アリールカルボニル基；2-(メトキシカルボニル)ベンゾイルのような低級アルコキシカルボニル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基等の「芳香族アシリル基」；メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、t-ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニルのような「低級アルコキシカルボニル基」；2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、2-トリメチルシリルエトキシカルボニルのような「ハロゲン又はトリ低級アルキルシリル基で置換された低級アルコキシカルボニル基」；ビニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニルのような「アルケニルオキシカルボニル基」；ベンジルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-ニトロベンジルオキシカルボニル、4-ニトロベンジルオキシカルボニルのような1～2個の「低級アルコキシ又はニトロ基でアリール環が置換されていてよいアラルキルオキシカルボニル基」を挙げることができ、好適には、「脂肪族アシリル基」又は「芳香族アシリル基」であり、さらに好適には、ベンゾイル基である。

「ヌクレオシド類縁体」とは、プリン又はピリミジン塩基と糖が結合した「ヌクレオシド」のうち非天然型のもの、並びに、プリン及びピリミジン以外の芳香族複素環及び芳香族炭化水素環でプリン又はピリミジン塩基との代用が可能なもの

と糖が結合したものという。

「オリゴヌクレオチド類縁体」とは、同一又は異なる「ヌクレオシド」又は「ヌクレオシド類縁体」がリン酸ジエステル結合で2～50個結合した「オリゴヌクレオチド」の非天然型誘導体をいい、そのような類縁体としては、好適には、糖部分が修飾された糖誘導体；リン酸ジエステル部分がチオエート化されたチオエート誘導体；末端のリン酸部分がエステル化されたエステル体；プリン塩基上のアミノ基がアミド化されたアミド体を挙げることができ、さらに好適には、糖部分が修飾された糖誘導体を挙げることができる。

「その塩」とは、本発明の化合物(1)及び(2)は、塩にすることができるの  
10 で、その塩をいい、そのような塩としては、好適にはナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩のようなアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩のようなアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、鉄塩、亜鉛塩、銅塩、ニッケル塩、コバルト塩等の金属塩；アンモニウム塩のような無機塩、t-オクチルアミン塩、ジベンジルアミン塩、モルホリン塩、グルコサミン塩、フェニルグリシンアルキルエステル塩、エチレンジアミン塩、N-メチルグルカミン塩、グアニジン塩、ジエチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシリルアミン塩、N,N'-ジベンジルエチレンジアミン塩、クロロプロカイン塩、プロカイン塩、ジエタノールアミン塩、N-ベンジルフェネチルアミン塩、ピペラジン塩、テトラメチルアンモニウム塩、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン塩のような有機塩等  
20 のアミン塩；フッ化水素酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩のようなハロゲン原子化水素酸塩、硝酸塩、過塩素酸塩、硫酸塩、リン酸塩等の無機酸塩；メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩のような低級アルカンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩のようなアリールスルホン酸塩、酢酸塩、リンゴ酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩等の有機酸塩；及び、グリシン塩、リジン塩、アルギニン塩、オルニチン塩、グルタミン酸塩、アスパラギン酸塩のようなアミノ酸塩を挙げができる。

「その薬理学上許容される塩」とは、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体は塩に

することができるので、その塩をいい、そのような塩としては、好適にはナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩のようなアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩のようなアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、鉄塩、亜鉛塩、銅塩、ニッケル塩、コバルト塩等の金属塩；アンモニウム塩のような無機塩、<sup>5</sup> t-オクチルアミン塩、ジベンジルアミン塩、モルホリン塩、グルコサミン塩、フェニルグリシンアルキルエステル塩、エチレンジアミン塩、N-メチルグルカミン塩、グアニジン塩、ジエチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシリアルアミン塩、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン塩、クロロプロカイン塩、プロカイン塩、ジエタノールアミン塩、N-ベンジルーフェネチルアミン塩、ピペラジン塩、テトラメチルアンモニウム塩、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン塩のような有機塩等のアミン塩；フッ化水素酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩のようなハロゲン原子化水素酸塩、硝酸塩、過塩素酸塩、硫酸塩、リン酸塩等の無機酸塩；メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩のような低級アルカンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、<sup>10</sup> p-トルエンスルホン酸塩のようなアリールスルホン酸塩、酢酸塩、リンゴ酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩等の有機酸塩；及び、グリシン塩、リジン塩、アルギニン塩、オルニチン塩、グルタミン酸塩、アスパラギン酸塩のようなアミノ酸塩を挙げることができる。

本発明の化合物(1)及びその塩のうち、好適な化合物としては、

(1) R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>が、同一又は異なって、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、1～3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基、またはシリル基である化合物及びその塩、

(2) R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>が、同一又は異なって、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、ジメトキシトリチル基、モノメトキシリチル基又はtert-ブチルジフェニルシリル基である化合物及びその塩、

(3) R<sub>3</sub>が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、1～3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくは

シアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基、シリル基、ホスホロアミダイト基、ホスホニル基、リン酸基または核酸合成の保護基で保護されたリン酸基である化合物及びその塩、

(4) R<sub>3</sub>が、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、tert-ブチルジフェニルシリル基、-P(OCH<sub>2</sub>H<sub>4</sub>CN)(N(iPr)<sub>2</sub>)、-P(OCH<sub>3</sub>)(N(iPr)<sub>2</sub>)、ホスホニル基、又は、2-クロロフェニルもしくは4-クロロフェニルリン酸基である化合物およびその塩、  
 (5) Aが直接結合、または-O-CH<sub>2</sub>-（ここで、酸素原子は4'位のメチレン基と結合している）である化合物及びその塩、

(6) Bが、6-アミノプリン-9-イル（即ち、アデニニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル（即ち、グアニニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、6-メルカプトプリン-9-イル、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、シトシニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒド

ロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、ウラシニル)、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、チミニル)、4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、5-メチルシトシニル)基、または、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イルである化合物及びその塩、

(7) Bが、ベンゾイルアミノプリン-9-イル、アデニル、2-イソブチリルアミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、グアニニル、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、シトシニル、2-オキソ-5-メチル-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、5-メチルシトシニル、ウラシニル又はチミニル基である化合物及びその塩を挙げることができる。

また、上記(1)～(2)、(3)～(4)または(6)～(7)は、番号が大きくなるに従って、より好適な化合物を示し、一般式(1)において、R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>を(1)～(2)から任意に選択し、R<sub>3</sub>を(3)～(4)から任意に選択し、Aを(5)から任意に選択し、Bを(6)～(7)から任意に選択し、また、これらを任意に組み合わせて得られた化合物及びその塩も好適であり、特に好適な組合せは、(2)-(3)-(5)-(6)、(2)-(3)-(5)-(7)、(2)-(4)-(5)-(6)及び(2)-(4)-(5)-(7)である。

本発明の化合物(2)及びその塩のうち、好適な化合物としては、

(8) R<sub>5</sub>が、同一又は異なって、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、1～3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基、またはシリル基である化合物及びその塩、

(9) R<sub>5</sub>が、同一又は異なって、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、ジメトキシトリチル基、モノメトキシトリチ

ル基又は *t e r t* -ブチルジフェニルシリル基である化合物及びその塩、

(10)  $R_6$  が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、1～3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基、シリル基、ホスホロアミダイト基、ホスホニル基、リン酸基または核酸合成の保護基で保護されたリン酸基である化合物及びその塩、

(11)  $R_6$  が、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、*t e r t*-ブチルジフェニルシリル基、 $-P(O C_2H_4CN)(N(iPr)_2)$ 、 $-P(OCH_3)(N(iPr)_2)$ 、ホスホニル基、又は、2-クロロフェニルもしくは4-クロロフェニルリン酸基である化合物およびその塩、

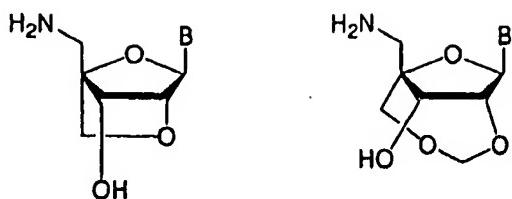
(12) B が、6-アミノプリン-9-イル（即ち、アデニニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル（即ち、グアニニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、6-メルカプトプリン-9-イル、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、シトシニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1,

2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1,  
2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒ  
ドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピ  
リミジン-1-イル、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジ  
5 シン-1-イル(即ち、ウラシニル)、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-  
1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、チミニル)、4-アミノ-5-メ  
チル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、5-メチル  
シトシニル)基、または、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4-アミノ  
-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イルである化合  
10 物及びその塩、

(13) Bが、ベンゾイルアミノプリン-9-イル、アデニル、2-イソブチリ  
ルアミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、グアニニル、2-オキソ-4-ペ  
ンソイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、シトシニル、2-オ  
キソ-5-メチル-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-  
15 イル、5-メチルシトシニル、ウラシニル又はチミニル基である化合物及びその  
塩を挙げることができる。

また、上記(8)～(9)、(10)～(11)または(12)～(13)は、番  
号が大きくなるに従って、より好適な化合物を示し、一般式(2)において、R  
<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>を(8)～(9)から任意に選択し、R<sub>3</sub>を(10)～(11)から任  
20 意に選択し、Bを(12)～(13)から任意に選択し、また、これらを任意に  
組み合わせて得られた化合物及びその塩も好適であり、特に好適な組合せは、  
(9)-(10)-(12)、(9)-(10)-(13)、(9)-(11)-(12)及び(9)-(11)-(13)で  
ある。

一般式(1)で表される化合物及びその塩で、特に好適には、下記群から選択さ  
25 れる化合物及びその塩である。

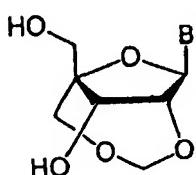


5

上記群の構造式中、Bは前述と同じ意味を表す。

一般式(2)で表される化合物及びその塩で、特に好適には、下記群から選択される化合物及びその塩である。

10



上記群の構造式中、Bは前述と同じ意味を表す。

本発明の一般式(3)または(4)で表される構造のいずれか一種以上を1または2個以上含有するオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩のうち、好適なものとしては、一般式(3)の構造を含有する場合には、  
 (14) Aが直接結合または $-O-CH_2-$ （ここで酸素原子は4'位のメチレン基と結合している。）であるオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩、

(15)  $R_1$ が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、1～3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基、またはシリル基であるオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩、

(16)  $R_1$ が、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、ジメトキシトリチル基、モノメトキシトリチル基又はtert-ブチルジフェニルシリル基であるオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上

許容される塩、

(17) Bが、6-アミノプリン-9-イル(即ち、アデニニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル(即ち、グアニニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、6-メルカプトプリン-9-イル、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、シトシニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、ウラシニル)、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、チミニル)、4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、5-メチルシトシニル)基、または、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イルであるオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩、

(18) Bが、ベンゾイルアミノプリン-9-イル、アデニル、2-イソブチリルアミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、グアニニル、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、シトシニル、2-オキソ-5-メチル-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、5-メチルシトシニル、ウラシニル又はチミニル基であるオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩を挙げることができる。  
5

一般式(4)の構造を含有する場合には、

(19) Bが、6-アミノプリン-9-イル(即ち、アデニニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル(即ち、グアニニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、6-メルカプトプリン-9-イル、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、シトシニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロ-1, 25 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジ

ン-1-イル(即ち、ウラシニル)、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、チミニル)、4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、5-メチルシトシニル)基、または、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イルであるオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩、

(20) Bが、ベンゾイルアミノプリン-9-イル、アデニル、2-イソブチリルアミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、グアニニル、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、シトシニル、2-オキソ-5-メチル-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、5-メチルシトシニル、ウラシニル又はチミニル基であるオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩を挙げができる。

また、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体及びその塩は、一般式(3)および(4)で表される構造のうち、一方のみを1個以上含有していてもよいし、一般式(3)および(4)の両者を1個以上含有していてもよい。

また、(15)～(16)、(17)～(18)または(19)～(20)、は、番号が大きくなるに従って、より好適なオリゴヌクレオチド類縁体を示し、一般式(3)においては、Aを(14)から任意に選択し、R<sub>1</sub>を(15)～(16)から任意に選択し、Bを(17)～(18)から任意に選択し、また、一般式(4)においては、Bを(19)～(20)から任意に選択し、また、これら一般式(3)および一般式(4)いずれかまたは両方の構造を任意に組合せて得られたオリゴヌクレオチド類縁体及びその薬理学上許容される塩も好適である。一般式(3)における特に好適な組合せは、(14)-(15)-(17)、(14)-(15)-(18)、(14)-(16)-(17)、(14)-(16)-(18)である。

25 本発明のヌクレオシド類縁体及びオリゴヌクレオチド類縁体は次のように合成できる。

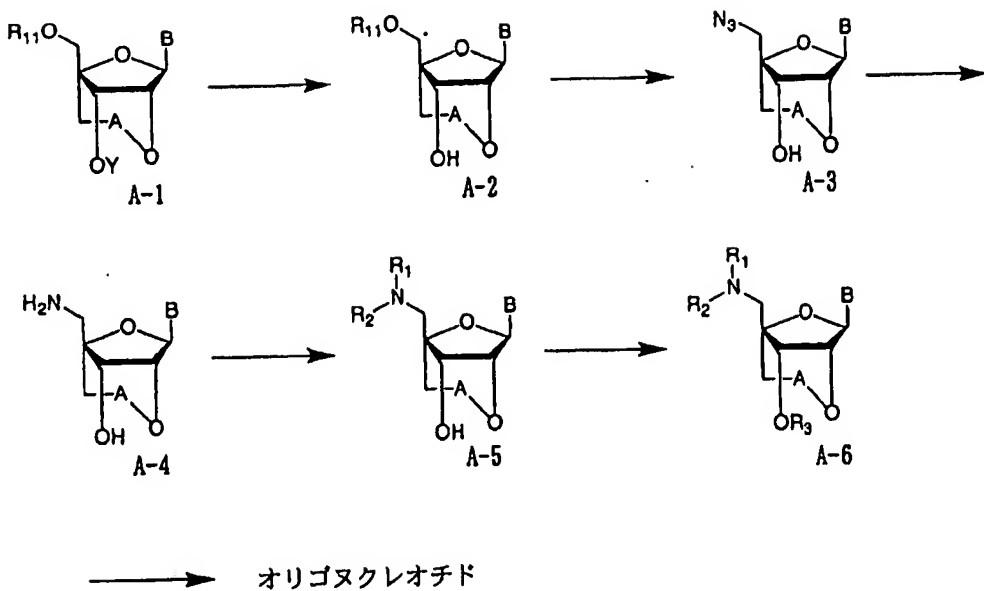
#### ヌクレオシド類縁体の合成

一般式(1)で表される化合物は、下記のA法により、一般式(2)で表される

化合物は、B法により得ることができる。

(A法)

A法



15       A法中、R<sub>11</sub>は脱離基を形成する基を示し、Yは保護基を示し、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、  
R<sub>3</sub>、AおよびBは前述と同意義を示す。

化合物A-1の3'位の保護された水酸基を脱保護して化合物A-2を得、化合物  
3をアジド化し、化合物A-3を得る。次いで、化合物A-3をアミノ体（化合  
物A-4）に変換する。化合物A-4に、R<sub>1</sub>及び／又はR<sub>2</sub>（特に、メトキシ基  
で置換されていてもよいトリチル基）を導入し、化合物A-5を得る。  
20

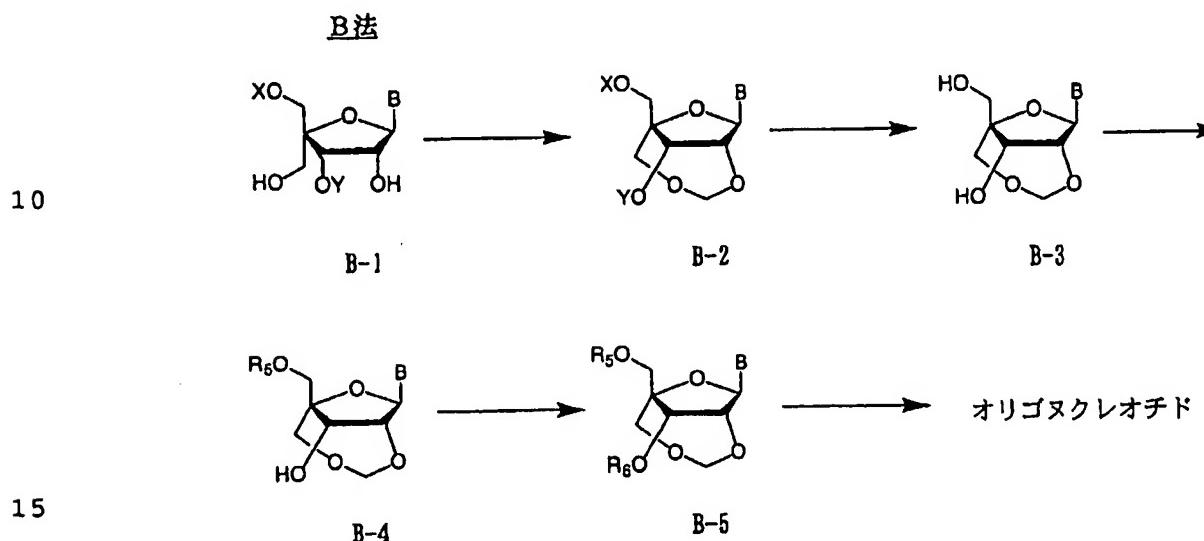
原料化合物である化合物A-1の合成方法は、一般式（1）におけるAが直接結合  
である場合には、例えば特開平10-304889号公報などに、また、Aが  
炭素数1～4のアルキレン基である場合には、例えば、特開2000-2970  
25 97号公報などに記載されている。Aが-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-、-N(R<sub>4</sub>)-(C  
H<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-である場合には、原料化合物である化合物A-1は後述のB法に準じて  
得ることができる。

R<sub>11</sub>の「脱離基を形成する基」としては、例えば、メタンスルホニル、エタンス  
ルホニルのような低級アルキルスルホニル基、トリフルオロメタンスルホニルの

のようなハロゲン置換低級アルキルスルホニル基、p-トルエンスルホニルのようなアリールスルホニル基を挙げることができ、好適には、メタンスルホニル基又はp-トルエンスルホニル基である。

Yの保護基は、前述のR<sub>3</sub>における「核酸合成の水酸基の保護基」と同一であるが、好適には、ベンジル基である。

(B法)



B法中、Xは保護基を示し、Yは保護基を示し、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>及びBは前述と同意義を示す。Xの保護基は、前述のR<sub>5</sub>における「核酸合成の水酸基の保護基」と同一であるが、好適にはベンジル基である。Yの保護基は、前述のR<sub>6</sub>における「核酸合成の水酸基の保護基」と同一であるが、好適にはベンジル基である。

化合物 B-1 にパラホルムアルデヒドを反応させることにより環形成反応を行つて化合物 B-2 を得る。次いで 3'位および 4'位水酸基の保護基をはずし、化合物 B-3 を得る。化合物 B-3 に、R<sub>1</sub> 及び／又は R<sub>2</sub>（特に、メトキシ基で置換されていてもよいトリチル基）を導入し、化合物 B-4 を得る。

25 原料化合物である化合物 B-1 の合成方法は、例えば、*Tetrahedron* 54, 3607-3630(1998)、特開 2000-297097 号公報などに記載されている。

## (2) オリゴヌクレオチド類縁体の合成

化合物 A-5 または B-4 に、R<sub>6</sub> (特に、ホスホニル基、モノ置換-クロロ (ア

ルコキシ) ホスフィン類、または、ジ置換ーアルコキシホスフィン類を反応することにより形成される基) を導入し、化合物A-6またはB-5を得る。DNAシンセサイザーを用いて種々のオリゴヌクレオチド類縁体を合成する。次いで、得られるオリゴヌクレオチド類縁体を逆相カラムを用いて精製し、生成物の純度を逆相HPLCで分析することにより、精製オリゴヌクレオチド類縁体の生成を確認できる。

なお、上記A法、B法における反応条件、保護基導入試薬、反応試薬は、具体的には実施例に記載の方法を参考にすることができますが、これに限定されず、本分野の技術常識に基づき使用可能な反応条件、試薬を適宜採用することができる。

10 例えば、特開2000-297097号公報、特開平10-304889号公報に記載の方法を参考にすることができる。また、一般式(1)または(2)におけるBとして種々の天然、非天然の核酸塩基およびその他の芳香族複素環や芳香族炭化水素環を有する場合についても、特開平10-304889号公報に記載の方法を参考にして、本発明化合物の原料を合成することができる。

15 化合物A-6およびB-5は、これらのいずれかもしくは両方をオリゴヌクレオチド類縁体の中に1個以上存在させることができる。また、オリゴヌクレオチド類縁体の2カ所以上の位置に、1又は2以上の天然ヌクレオチドを介して隔離された状態で存在させてもよい。本発明によれば、本発明のヌクレオチド類縁体を必要な位置に必要な数(長さ)で導入したオリゴヌクレオチド類縁体を合成する  
20 ことができる。ヌクレオチド類縁体全体の長さとしてヌクレオチド単位が2~50、好ましくは8~30個である。

本発明のヌクレオチド類縁体は、ヌクレアーゼに対して分解されにくく、生体への投与後、長く生体内に存在することができる。そして、例えば、センスRNAと二重鎖を形成して病因となる生体内成分(タンパク質)の形成してmRNAへの転写を阻害する。また、感染したウイルスの増殖を阻害すると考えられる。

これらのことから、本発明のヌクレオチド類縁体は、抗腫瘍剤、抗ウイルス剤とはじめとした遺伝子の働きを阻害して疾病を治療する医薬品としての有用性が期待される。即ち、本発明によれば、安定で優れたアンチセンスもしくはアンチジ

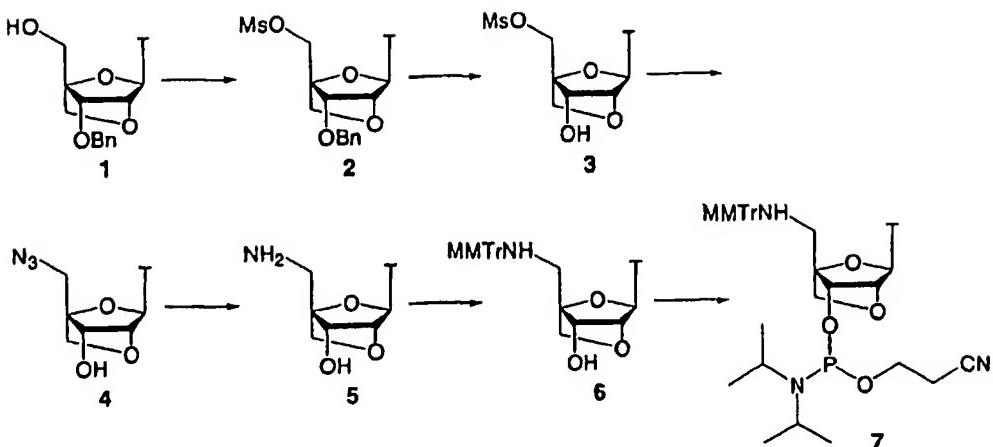
ーン活性、又は特定遺伝子の検出薬若しくは増幅開始の為のプライマーとして優れた活性を有する、オリゴヌクレオチド類縁体及びその製造中間体であるヌクレオシド類縁体が提供される。具体的には、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体は、各種の生理・生物活性物質類、医薬品類の材料、RNA i、デコイ用二重鎖オリゴヌクレオチドの機能性材料、cDNAなど一本鎖核酸を標的とするDNAチップ、モレキュラービーコン (molecular beacon) などの機能性素材、様々なアンチセンス法 (リボザイム、DNAザイムを含む) やアンチジーン法用途への機能性素材などとして有用である。中でも、一般式 (3) で表される構造を含有するオリゴヌクレオチド類縁体は、合成が容易であるとともに、RNAにとの二重鎖形成能が高く、また、酵素耐性にも優れているのでアンチセンス法に特に適する。また、一般式 (4) で表される構造を含有するオリゴヌクレオチド類縁体は、2'-4'の環構造の自由度が高いので、三重鎖の形成に適しており、あるいは、RNAとの二重鎖形成能にも優れ、また酵素耐性にも優れているので、アンチジーン法あるいはアンチセンス法に特に適する。

本発明のヌクレオチド類縁体は、例えば緩衝剤および／または安定剤等の慣用の助剤を配合して非経口投与用製剤とすることができます。また、局所用の製剤としては、慣用の医薬用担体を配合して軟膏、クリーム、液剤、または膏薬等に調剤できる。

以下、本発明のヌクレオシド類縁体およびヌクレオチド類縁体の合成を実施例に基づいてさらに詳しく説明する。

[実施例 1] ヌクレオシド類縁体の合成：3'-O-[2-Cyanoethoxy-(diisopropylamino)phosphino]-5'-deoxy-5'-(4-methoxytriphenyl-methylamino)-5-methyl-2'-O,4'-C-methyleneuridine（化合物7）の合成

## 実施例 1



## (1) 3'-O-Benzyl-5'-mesyl-5-methyl-2'-O,4'-C-methyleneuridine (化合物 2)

窒素気流下、化合物 1 (25 mg, 0.069 mmol) のピリジン溶液 (2.0 ml) に、メタンスルホニルクロリド (6  $\mu$ l, 0.083 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応液に飽和重曹水を加えた後、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン:酢酸エチル = 1:2) により精製し、化合物 2 (30 mg, 99%) を白色粉末として得た。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.93 (3H, s), 3.08 (3H, s), 3.89, 4.09 (2H, AB,  $J$  = 8 Hz), 3.93 (1H, s), 4.53, 4.61 (2H, AB,  $J$  = 13 Hz), 4.61 (1H, s), 4.56, 4.67 (2H, AB,  $J$  = 11 Hz), 5.68 (1H, s), 7.26-7.42 (6H, m) and 8.56 (1H, brs).

mp. 76-80 °C

## (2) 5'-Azido-5'-deoxy-5-methyl-2'-O,4'-C-methyleneuridine (化合物 4)

20%  $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$  30 mg のエタノール懸濁液に化合物 2 (35 mg, 0.080 mmol) のエタノール溶液とシクロヘキセン (0.3 ml, 3.0 mmol) を加え 2 時間加熱還流した。触媒をろ過により除去し、溶媒を減圧留去後、得られた 5'-O-mesyl-5-methyl-2'-O,4'-C-methyleneuridine (化合物 3) の白色固体 (27 mg) を精製することなく次の反応に用いた。

化合物 3 (27 mg, 0.078 mmol) とアジ化ナトリウム (10 mg, 0.154 mmol) の

ジメチルホルムアミド (3.0 ml) 溶液を窒素気流下、室温で 1.5 時間、100°Cで 2 時間攪拌した。溶媒を減圧留去した後、少量の水を加えて酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムにて乾燥後、溶媒を減圧留去すると、化合物 4 (28 mg, quant in 2 steps) を黄色油状物質として得た。

5  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 1.90 (3H, s), 3.77 (2H, s), 3.84, 4.02 (2H, AB,  $J$  = 8 Hz), 4.14 (1H, s), 4.58 (1H, s), 5.55 (1H, s), 7.47 (1H, s) and 9.89 (1H, brs).

IR (KBr) 2105  $\text{cm}^{-1}$  (N<sub>s</sub>).

( 3 ) 5'-Deoxy-5'-(4-methoxytriphenylmethylamino)-5-methyl-2'-O,4'-C-methyleneuridine (化合物 6)

10 窒素気流下、化合物 4 (28 mg, 0.095 mmol) のピリジン溶液 (3.0 ml) にトリフェニルホスフィン (49 mg, 0.19 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。28% アンモニア水溶液 (5.0 ml) を加え、さらに 14 時間攪拌した後、溶媒を減圧留去し、5'-amino-5'-deoxy-5-methyl-2'-O,4'-C-methyleneuridine (化合物 5) を粗成績体として得た。

15 窒素気流下、化合物 5 のピリジン溶液 (2.0 ml) にモノメトキシトリチルクロリド (32 mg, 0.104 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。反応液に飽和重曹水を加えた後、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム:メタノール = 9:1) により精製 20 し、化合物 6 (45 mg, 87% in 2 steps) を無色油状物質として得た。

20  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  : 1.91 (3H, s), 2.51, 2.65 (2H, AB,  $J$  = 14 Hz), 3.74 (3H, s), 3.76, 3.92 (2H, AB,  $J$  = 8 Hz), 4.25 (1H, s), 4.35 (1H, s), 5.63 (1H, s), 6.76 (2H, d,  $J$  = 9 Hz), 7.14-7.80 (15H, m) and 8.99 (1H, brs).

( 4 ) 3'-O-[2-Cyanoethoxy(diisopropylamino)phosphino]-5'-deoxy-5'- (4-methoxytriphenylmethylamino)-5-methyl-2'-O,4'-C-methyleneuridine  
25 (化合物 7 )

窒素気流下、化合物 6 (56 mg, 103  $\mu\text{mol}$ ) とジイソプロピルアンモニウムテトラゾリド (20 mg, 99  $\mu\text{mol}$ ) のアセトニトリル-テトラヒドロフラン溶液 (3:1, 4

ml) を加え、2-シアノエチル *N,N,N',N'*-テトライソプロピルホスホジアミダイト (53  $\mu$ l, 167  $\mu$ mol) を加えて、室温で、16.5 時間攪拌した。2-シアノエチル *N,N,N',N'*-テトライソプロピルホスホジアミダイト (10  $\mu$ l, 31  $\mu$ mol) を追加し、4 時間攪拌した。さらに、2-シアノエチル *N,N,N',N'*-テトライソプロピルホスホジアミダイト (50  $\mu$ l, 157  $\mu$ mol) 追加し、2.5 時間攪拌した。溶媒を減圧留去し、得られた粗成績体をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン:酢酸エチル=1:1) 後、再沈殿 (*n*-ヘキサン・酢酸エチル) にて精製し、化合物 7 (69 mg, 90%) を白色粉末として得た。

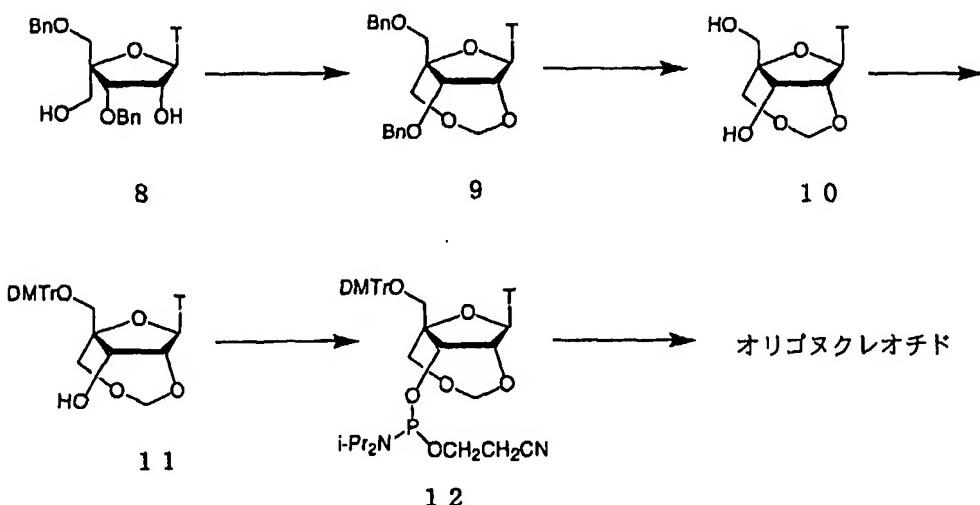
$^{31}\text{P}$ -NMR (acetone- $d_6$ )  $\delta$  : 142.3, 142.5.

mp. 74-77 °C

[実施例 2] ヌクレオシド類縁体の合成 : 3'-O-[2-cyanoethoxy-(diisopropylamino)phosphino]-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-2'-O,4'-C-methylenoxymethylene-5-methyluridine (化合物 12) の合成

15

### 実施例 2



20

(1) 2'-O,4'-C-Methylenoxymethylene-5-methyluridine  
(化合物 10)

窒素気流下、室温で化合物 8 (48 mg, 0.10 mmol: J. Wengel et al.,

窒素気流下、室温で化合物8 (48 mg, 0.10 mmol: J. Wengel et al., Tetrahedron, 54, 3607-3630 (1998)に記載の化合物) の1,2-ジクロロメタン溶液にp-トルエンスルホン酸・1水和物 ((10 mg, 53 μmol) およびバラホルムアルデヒド (50 mg) を加え、その混合物を2時間還流した。反応液に飽和重曹水を加えた後、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、減圧濃縮した。得られた残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン - 酢酸エチル (3:2, v/v)) により精製し、化合物9 (41 mg, 84%) を白色粉末として得た。

mp 65-70°C.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.52 (3H, s), 3.54 (1H, d, J = 10 Hz), 3.68-3.76 (3H, m), 4.37 (1H, d, J = 6 Hz), 4.44 (1H, d, J = 6 Hz), 4.50-4.60 (3H, m), 4.79 (1H, d, J = 12 Hz), 5.21, 5.31 (2H, AB, J = 6 Hz), 6.12 (1H, s), 7.21-7.37 (10H, m), 7.60 (1H, s), 8.07 (1H, brs).

20%Pd(OH)<sub>2</sub>/C (25 mg) のエタノール懸濁液に化合物9 (36 mg, ca. 75 mmol) のエタノール溶液とシクロヘキセン (0.38 ml, 3.75 mmol) を加え、3時間還流した。混合物をろ過した後、ろ液にシリカ (0.2 g) を加え、減圧濃縮した。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール (12:1, v/v)) により精製し、化合物10 (20 mg, 89%)を得た。

mp 294-295°C.

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ: 1.86 (3H, s), 3.65, 3.70 (2H, AB, J = 12 Hz), 3.70 (2H, s), 4.18 (1H, d, J = 6 Hz), 4.49 (1H, d, J = 6 Hz), 5.07, 5.32 (2H, AB, J = 6 Hz), 6.05 (1H, s), 7.99 (1H, s).

(2) 5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-2'-O,4'-C-methylenoxy-methylene-5-methyluridine (化合物11)

窒素気流下、室温で化合物10 ((157 mg, 0.52 mmol) の無水ピリジン (3 ml) 溶液にジメトキシトリチルクロリド (DMTrCl、266 mg, 0.79 mmol) を加え、

室温で3時間攪拌した。反応液に飽和重曹水を加えた後、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、次いで減圧濃縮した。残渣をフラッショナルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール(50:1, v/v))により精製し、化合物11(315 mg, 100%)を得た。

mp 189-194 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (acetone-d<sub>6</sub>) δ: 1.42 (3H, s), 3.34, 3.38 (2H, AB, J = 11 Hz), 3.70, 3.85 (2H, AB, J = 12 Hz), 3.79 (6H, s), 4.34 (1H, d, J = 6 Hz), 4.91 (1H, dd, J = 6, 6 Hz), 5.07 (1H, d, J = 6 Hz), 5.28 (1H, d, J = 6 Hz), 5.30 (1H, d, J = 6 Hz), 6.16 (1H, s), 6.89 (4H, d, J = 8 Hz), 7.24-7.51 (9H, m), 7.60 (1H, s), 9.97 (1H, brs).

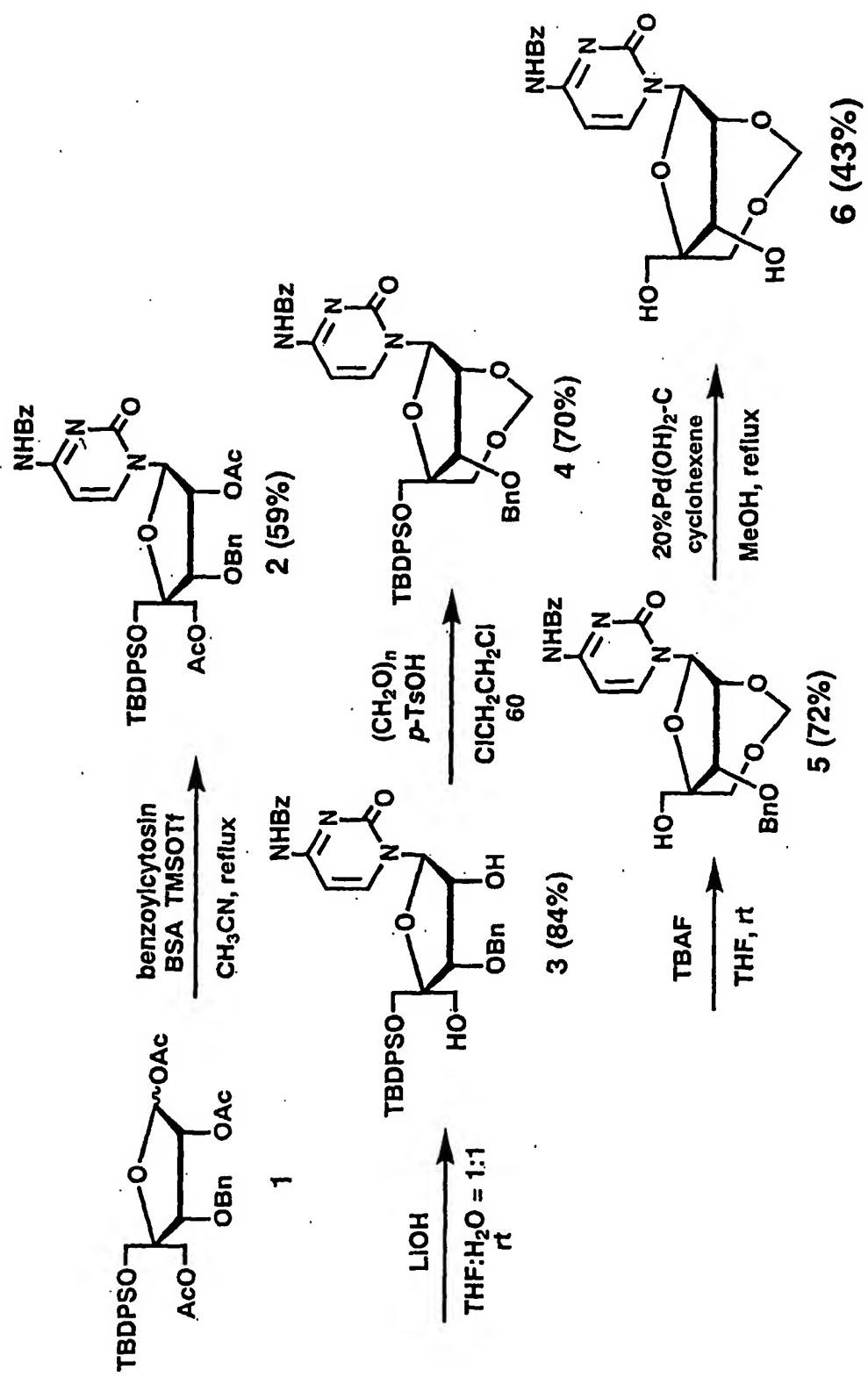
(3) 3'-O-[2-cyanoethoxy(diisopropylamino)phosphino]-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-2'-O,4'-C-methylenoxymethylene-5-methyluridine (化合物12)

窒素気流下、化合物11(100 mg, 0.17 mmol)とジイソプロピルアンモニウムテトラゾリド(40 mg, 0.23 mmol)の無水アセトニトリル-テトラヒドロフラン溶液(3:1, 4 ml)に、室温で2-シアノエチル-*N,N,N',N'*-テトライソプロピルホスホジアミダイト(189 μl, 0.60 mmol)を加えて、室温で4時間攪拌し、さらに40°Cで7時間攪拌した。溶媒を減圧留去し、残渣をフラッショナルカラムクロマトグラフィー(n-ヘキサン-酢酸エチル(1:1, v/v))により精製し、化合物12(107 mg, 80%)を得た。

mp 81-87 °C. <sup>31</sup>P-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>p</sub>: 150.50, 150.83.

25

[実施例3] ヌクレオシド類縁体の合成 *N*<sup>4</sup>-benzoyl-2'-O-4'-C-methylenoxymethylenecytidine (化合物26)



(1) *N*<sup>4</sup>-Benzoyl-4'-*C*-acetoxyethyl-2'-*O*-acetyl-3'-*O*-benzyl-5'-*O*-*tert*-butyldiphenylsilylcytidine (化合物 2 2) の合成

窒素気流下、化合物 2 1 (1.86 g, 2.93 mmol) の無水アセトニトリル溶液 (30 ml) にベンゾイルシトシン (950 mg, 4.40 mmol), *N*, *O*-ビス(トリメチルシリル)アセタミド (1.67 ml, 11.7 mmol) を加え、2 時間加熱還流した。0°C に冷却し、トリメチルシリルトリフルオロメタンスルホン酸 (0.26 ml, 1.47 mmol) を滴下し、6 時間加熱還流した後、反応液を飽和重曹水に滴下した。この溶液を酢酸エチルで抽出し、有機層を水、飽和食塩水の順に洗浄した後、硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン:酢酸エチル=3:2) により精製し、化合物 2 2 (1.37 g, 59%) を白色粉末として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.12 (9H, s), 1.94 (3H, s), 2.12 (3H, s), 3.77, 4.03 (2H, AB, *J* = 11 Hz), 4.51 (1H, d, *J* = 4 Hz), 4.54, 4.13 (2H, AB, *J* = 12 Hz), 4.60, 4.20 (2H, AB, *J* = 11 Hz), 5.51 (1H, dd, *J* = 4 Hz, 4 Hz), 6.24 (1H, d, *J* = 4 Hz), 7.65-7.21 (19H, m), 7.90 (2H, d, *J* = 7 Hz), 8.12 (1H, d, *J* = 7 Hz), 8.81 (1H, brs).

mp 135-140°C.

(2) *N*<sup>4</sup>-Benzoyl-3'-*O*-benzyl-5'-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-4'-*C*-hydroxymethylcytidine (化合物 2 3) の合成

窒素気流下、化合物 2 2 (6.50 g, 8.23 mmol) のテトラヒドロフラン:水 = 1:1 (90 ml) の溶液に、水酸化リチウム一水和物 (1.60 g, 38.2 mmol) を加え、2 時間攪拌した。水酸化リチウム一水和物 (500 mg, 11.9 mmol) を加えさらに 2 時間攪拌した後、酢酸エチルで抽出し、有機層を水、飽和食塩水の順位に洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶媒留去後、酢酸エチルで再結晶し、化合物 2 3 (5.24 g, 84%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.07 (9H, s), 3.11 (1H, brs), 3.68, 3.85 (2H, AB, *J* = 11 Hz), 3.85, 3.73 (2H, AB, *J* = 11 Hz), 4.32 (1H, d, *J* = 6 Hz), 4.36 (1H, brs), 4.47, 4.84 (2H, AB, *J* = 11 Hz), 4.82 (1H, brs), 6.11 (1H, s), 7.21-7.61 (19H, m),

7.91 (2H, d,  $J = 7$  Hz), 8.14 (1H, d,  $J = 7$  Hz), 8.93 (1H, brs).  
mp 144-145°C.

(3) *N*<sup>4</sup>-Benzoyl-3'-*O*-benzyl-5'-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2'-*O*-4'-*C*-methylenoxymethylenecytidine (化合物 24) の合成

窒素気流下、化合物 23 (324 mg, 0.46 mmol) の無水ジクロロエタン溶液 (20 ml) に、*p*-トルエンスルホン酸一水和物 (130 mg, 0.68 mmol) を加えて 60°C に加熱した。この溶液にパラホルムアルデヒド (41 mg) を加え、60°C で 90 分攪拌した。パラホルムアルデヒド (50 mg) を加え、さらに 2 時間攪拌した後、反応液を氷冷後、飽和重曹水を加えた。この溶液を酢酸エチルで抽出し、有機層を水、飽和食塩水の順に洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン:酢酸エチル=2:3) により精製し、化合物 24 (230 mg, 70%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.25 (1H, brs), 3.68-3.85 (4H, m), 4.53, 4.57 (2H, AB,  $J = 6$  Hz) 4.57 (1H, d,  $J = 11$  Hz), 4.80 (1H, d,  $J = 11$  Hz), 5.25, 5.37 (2H, AB,  $J = 6$  Hz), 6.13 (1H, s), 7.25-7.39 (15H, m), 7.48-7.64 (4H, m), 7.87 (2H, d,  $J = 8$  Hz), 8.24 (1H, d,  $J = 8$  Hz), 8.73 (1H, brs).  
mp 102-105°C.

(4) *N*<sup>4</sup>-Benzoyl-3'-*O*-benzyl-2'-*O*-4'-*C*-methylenoxymethylenecytidine (化合物 25) の合成

窒素気流下、化合物 24 (1.05 g, 1.46 mmol) の無水 THF 溶液 (30 ml) に 1 M TBAF の THF 溶液 (1.9 ml) を加えて 18 時間攪拌した。溶媒留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン:酢酸エチル=1:3) により精製し、化合物 25 (504 mg, 72%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.38 (1H, brs), 3.70, 3.86 (2H, ABq,  $J = 12$  Hz), 3.73, 3.78 (2H, AB,  $J = 12$  Hz), 4.52, 4.57 (2H, AB,  $J = 6$  Hz), 4.57 (1H, d,  $J = 12$  Hz), 4.80 (1H, d,  $J = 12$  Hz), 5.25, 5.37 (2H, AB,  $J = 6$  Hz), 6.15 (1H, s), 7.29-7.39

(5H, m), 7.47-7.63 (4H, m), 7.86 (2H, d,  $J = 7$  Hz), 8.28 (1H, d,  $J = 7$  Hz), 8.74 (1H, brs).  
mp 242-243°C.

5 (5) *N*<sup>4</sup>-Benzoyl-2'-O-4'-C-methylenoxymethylene cytidine  
の(化合物26)の合成

窒素気流下、化合物25 (86 mg, 0.17 mmol) の無水メタノール溶液 (15 ml) に水酸化パラジウム-活性炭 (68 mg)、シクロヘキセン (0.17 ml, 1.7 mmol) を加え、3時間加熱還流した。反応液をろ過後、ろ液にシリカゲル (0.2 g) を加え、溶媒留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム:メタノール=12:1) により精製し、化合物26 (30 mg, 43%) を白色固体として得た。  
<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ: 3.52-3.66 (4H, m), 4.50 (1H, d,  $J = 11$  Hz), 4.62 (1H, d,  $J = 11$  Hz), 5.01, 5.20 (2H, AB,  $J = 6$  Hz), 5.77 (1H, d,  $J = 8$  Hz), 5.99 (1H, s), 7.15-7.26 (5H, m), 8.03 (1H, d,  $J = 8$  Hz).

15 [実施例4] ヌクレオシド類縁体を含有するオリゴヌクレオチド類縁体の合成

化合物12を含有するオリゴヌクレオチド類縁体は、標準的なホスホロアミダイトプロトコールに従って、Expedite™ 8909 (ABI社製)により0.2 μmolスケールで合成した。アミダイトユニット(化合物12)と5'-末端の水酸基とのカップリング時間は、2分(標準条件)から45分に延長した。5'-末端のDMTr基により保護され、固相支持されたオリゴヌクレオチド類縁体は、濃アンモニウムヒドロキシドで60℃で18時間処理し、溶媒を留去した。得られた粗成績体を NENSORB™ PREP により粗精製後、逆相HPLC (WakoPak® WS-DNA column, 10 mm × 250 mm)により精製した。

25 合成されたオリゴヌクレオチド類縁体の純度は、逆相HPLC (WakoPak® WS-DNA column, 4.6 mm × 250 mm)により確認した(条件: 0.1M トリメチルアンモニウム酢酸バッファー (pH7.0) 中、1 ml/min. で 30 分の 8-16% アセトニトリルのグラディエント)。また、分子量は、MALDI-TOF-MASS 測定によ

り決定した。

また、化合物7を含有するオリゴヌクレオチド類縁体も上記と同様の方法により合成した。

以下に合成したオリゴヌクレオチド類縁体を示す。

5

表1：化合物7（表中、Xで示す）を含有するオリゴヌクレオチド類縁体

No.	オリゴヌクレオチド類縁体
7-1	5'-TTTTXTTTT-3'
7-2	5'-TXXXXXXXT-3'
7-3	5'-TTTXTXTXT-3'
7-4	5'-TTTTTTTXT-3'
7-5	5'-TXTTTTTTT-3'

表2：化合物12（表中、Xで示す）を含有するオリゴヌクレオチド類縁体（その1）

5'-TCCTC~~NNNNN~~CCTCT-3' (Cは2'-デオキシ-5'-フルシジンを意味する)

No.	NNNNN	逆相 HPLC 収率(%)	
		保持時間(分)	
12-1	5'-TTXTT-3'	17.8	33
12-2	5'-TXXXT-3'	18.5	33
12-3	5'-XTXTX-3'	19.3	22
12-4	5'-XXXXX-3'	19.2	15

表3：化合物12（表中、Xで示す）を含有するオリゴヌクレオチド

5 類縁体（その2）

No.	逆相 HPLC 保持時間（分）	収率(%)	
		12-5	5'-TTTT <u>C</u> XTCTCTCT-3'
		18.8	33

表中、Cは2'-デオキシ-5'-メチルシチジンを意味する。

10

表4：化合物12（表中、Xで示す）を含有するオリゴヌクレオチド

類縁体（その3）

15

<u>5' - GCGNNNNNNGCT - 3'</u>	
No.	NNNNNN
12-6	TTTTTT
12-7	TTXTTT
20 12-8	TTXTXT
12-9	XTXTXT
12-10	TTXXXT
12-11	XXXXXX

## 25 実験例1：融解温度（Tm）の測定（1）

実施例で合成したオリゴヌクレオチド鎖7-1～7-5（アンチセンス鎖）とセンス鎖とをアニーリング処理したもののTmを測定することにより、アンチセンスのハイブリッド形成能を調べた。

終濃度をそれぞれ、NaCl 150 mM、リン酸ナトリウム緩衝液(pH 7.2) 10 mM、アンチセンス鎖 2 μM、センス鎖 2 μMとしたサンプル溶液(500 μL)を沸騰水中に浴し、10時間かけて室温まで冷却した。分光光度計(shimadzu, UV-2100 PC)のセル室内に結露防止のために窒素気流を通して、サンプル溶液を5℃まで徐々に冷却し、さらに20分間10℃に保った後、測定を開始した。温度は90℃まで毎分0.2℃ずつ上昇させ、0.1℃間隔で260 nmにおける紫外部吸収を測定した。なお温度上昇により濃度が変化するのを防ぐため、セルは蓋付きのものを用い、サンプル溶液表面に鉛油を1滴添加し測定を行った。

結果を表5に示す。

表5

T<sub>m</sub>(ΔT<sub>m</sub>/単位修飾)(℃)

センス鎖

	アンチセンス鎖	Poly A	Poly dA
天然型	5'-TTTTTTTTT-3'	24	28
15	7-1 5'-TTTTXTTTT-3'	30(+6.0)	27(-1.0)
	7-2 5'-XXXXXXXX-3'	47(+2.9)	39(+1.4)
	7-3 5'-TTTTXTXTXT-3'	58(+11.3)	19(-3.0)
	7-4 5'-TTTTTTTTXT-3'	29(+5.0)	28(0)
	7-5 5'-TXTTTTTTT-3'	31(+7.0)	27(-1.0)

20

以上より、本発明のヌクレオチド類縁体は、一本鎖DNAに対する親和性に比較して一本鎖RNAに対する親和性が高く、アンチセンス法に適するものと考えられる。

#### 実験例2：融解温度(T<sub>m</sub>)の測定(2)

実施例で合成したオリゴヌクレオチド鎖7-3について、実験例1と同様の方法により、二重鎖DNA(ヘアピンDNA)との三重鎖形成能を調べた。

結果および実験条件を表6に示す。

表 6

<u>アンチセンス鎖</u>		<u>T<sub>m</sub> (°C)</u>
天然型	5'-TTTTTTTTT-3'	ND
7 - 3	5'-TTTTXTXTXT-3'	29

5

実験条件：150mM NaCl, 10mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 緩衝液(pH7.0), 10mM MgCl<sub>2</sub>,  
各鎖 2 μM, 5°C から 90°C (0.5°C／分)。

ND : 検出されず。

標的二重鎖（ヘアピンDNA）： 5'-AAAAAAAAA C<sub>4</sub>  
10 3'-TT TT TT TT TT TT

10

表 6 より、天然型オリゴヌクレオチドが二本鎖DNAとの三重鎖形成能が認められなかったのに比較して、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体には三重鎖形成能が認められ、アンチージーン法などにも有用であると考えられた。

### 実験例 3：融解温度 (T<sub>m</sub>) の測定 (3)

実施例で合成したオリゴヌクレオチド鎖 1 2 - 5 について、実験例 1 と同様の方法により、二重鎖DNAとの三重鎖形成能を調べた。

結果および実験条件を表 7 に示す。

20

表 7

化合物 1 2 - 5 : 5'-d(TT TTTCT XTCT CT CT)-3'

標的二重鎖 : 5'-d(GCTAAAAAGAYAGAGAGATCG)-3'

3'-d(CGATT TT TCTZT CT CT CTAGC)-5'

25

Tm (°C)

X	Y · Z			
	C · G	G · C	T · A	A · T
T	25	20	17	44
1 2	28	21	15	46

5

実験条件：150mM KCl, 7mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 緩衝液(pH7.0), 10mM MgCl<sub>2</sub>,  
各鎖 1.5 μM, 5°C から 85°C (0.5°C／分)。

表7中、1 2は本発明の化合物1 2を示し、Cは2'-デオキシ-5'-メチル  
10 シチジンを意味する。表7より、本発明の化合物1 2を含むオリゴヌクレオチド  
類縁体は、標的二重鎖との間に高い配列選択性で三重鎖を形成したことがわかる。

#### 実験例4：融解温度(Tm)の測定(4)

実施例で合成したオリゴヌクレオチド鎖1 2-1～1 2-4について、実験例  
15 1と同様の方法により、これらオリゴヌクレオチド鎖と一本鎖RNA、一本鎖DNA  
NAとの二重鎖形成能、及び二本鎖DNAとの三重鎖形成能を調べた。

結果および実験条件を表8に示す。

センス鎖：  
5'-TCTT CNNNNNCTCT-3'  
標的二本鎖DNA：  
5'-GCTAGAAGAAAAAGAGATC-3'  
20 3'-CGATCTT CTT TT T CT CTAG-3'  
標的一本鎖DNA又はRNA：5'-AGAAGAAAAAGAGA-3'

Tm (°C)

三重鎖形成能 二重鎖形成能

No.	NNNNN	二本鎖DNA	一本鎖DNA	一本鎖RNA
天然型	5'-TTTTT-3'	38	47	50
1 2-1	5'-TTXTT-3'	39	45	51
1 2-2	5'-TXXXT-3'	41	41	55
1 2-3	5'-XTXTX-3'	42	40	56
1 2-4	5'-XXXXX-3'	36	39	60

表8中、Cは2'-デオキシ-5'-メチルシチジンを意味する。表8より、本発明の化合物12を含むオリゴヌクレオチド類縁体は、天然型に比較して一本鎖RNAに対して高い二重鎖形成能を有していることがわかる。また、三重鎖形成能も優れていることもわかる。

5 同様に、上記実施例で合成したオリゴヌクレオチド鎖12-6～12-11について、実験例1と同様の方法により、これらオリゴヌクレオチド鎖と一本鎖RNA、及び一本鎖DNAとの二重鎖形成能との二重鎖形成能を調べた。  
結果および実験条件を表9に示す。

10 表9：Tm測定結果

センス鎖： 5' - G C G X X X X X G C T - 3'

標的一本鎖： 3' - C G C A A A A A A C G A - 5'

番号	ssDNA Tm ( $\Delta T_m$ )				ssRNA Tm ( $\Delta T_m$ )			
	1回目	2回目	3回目	平均	1回目	2回目	3回目	平均
12-6	51.2	50.5	50.6	50.8	46.5	46.6	46.6	46.6
12-7	46.7	47.1	47.6	47.1 (-3.7)	47.0	47.1	47.6	47.2 (0.6)
12-8	45.2	44.5	45.6	45.1 (-2.9)	48.5	48.6	48.6	48.6 (1.0)
12-9	43.7	43.1	43.1	43.3 (-2.5)	53.5	53.6	52.6	53.2 (2.2)
12-10	43.7	44.0	44.2	44.0 (-2.3)	50.6	50.6	51.6	50.9 (1.4)
12-11	44.1	44.5	45.1	44.6 (-1.0)	60.1	60.6	59.9	60.2 (2.3)

15 表9の結果から明らかなように、本発明の化合物12を含むオリゴヌクレオチド類縁体は、一本鎖DNA及び一本鎖RNAに対して高い二重鎖形成能を有していることがわかる。

#### 実験例5：酵素耐性の測定

天然型及び非天然型の下記のオリゴヌクレオチドについて、オリゴヌクレオチドを3'側から分解するエキソヌクレアーゼに対する耐性を調べた。

15分間37℃に保ったオリゴヌクレオチド(10μg)のバッファー溶液(3

20 μl)に、蛇毒ホスホジエステラーゼ(0.2 μg)のバッファー溶液を混合した。オリゴマーの分解による紫外外部吸収(260 nm)の増加をSHIMA DZU UV-2100PCを用い、37℃で経時的に測定した。用いたバッファーの組成はTris HCl(pH 8.0) 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 10 mMで  
5あり、測定前に十分に脱気した。

測定に用いたオリゴヌクレオチドの配列を以下に示す。

天然型 5'-TTTTTTTTT-3'

7-4 5'-TTTTTTTTX-3'

紫外外部吸収の経時変化を表10及び図1に示した。表10及び図1中、「% of (10mer+9mer) ODN」とは、0時点における未分解オリゴヌクレオチド(10mer)に対する、測定時点における未分解オリゴヌクレオチド(10mer)及び3'側ヌクレオチドが1個外れたオリゴヌクレオチド(9mer、即ち、天然型では、5'-TTTTTTTT-3'、化合物7-4では、5'-TTTTTTTX-3')の残存率%（吸光度での比率）を示す。

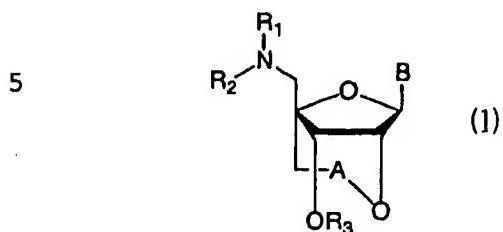
15 表10

オリゴヌクレオチド	% of (10mer+9mer) ODN						
	0	5	10	20	40	90	180(分)
7-4	100	57	44	18	0	0	0
天然型	100	0	0	0	0	0	0

表10および図1の結果から、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体は、天然型に比較して優れた酵素耐性を有していることがわかった。

## 請求の範囲

1. 下記一般式（1）で表される化合物及びその塩。



（式中、Aは、直接結合、炭素数1～4のアルキレン基、 $-\text{O}-\text{(CH}_2\text{)}_m-$ （ここで、酸素原子は4'位のメチレン基と結合している。mは1～3の整数を示す。）、または、 $-\text{N}(\text{R}_4)-\text{(CH}_2\text{)}_n-$ （ここで、窒素原子は4'位のメチレン基と結合している。nは1～3の整数を示す）。を示す。

Bは、置換基を有していてもよい芳香族複素環基もしくは芳香族炭化水素環基を示す。

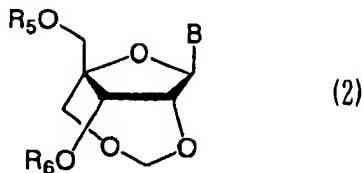
15  $\text{R}_1$ 、 $\text{R}_2$ 、 $\text{R}_3$ 、 $\text{R}_4$ は、同一又は異なって、水素原子、核酸合成のアミノ基の保護基（ $\text{R}_1$ 、 $\text{R}_2$ 、 $\text{R}_4$ の場合）、核酸合成の水酸基の保護基（ $\text{R}_3$ の場合）、アルキル基、アルケニル基、シクロアルキル基、アリール基、アラルキル基、アシリル基、シリル基、リン酸基、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基、または、 $-\text{P}(\text{R}_7)\text{R}_8$  [式中、 $\text{R}_7$ および $\text{R}_8$ は、同一または異なって、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカブト基、アミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、炭素数1～6のシアノアルコキシ基、または、炭素数1～5のアルキル基で置換されたアミノ基を示す。] を示す。）

2.  $\text{R}_1$ 及び $\text{R}_2$ が、同一又は異なって、水素原子、脂肪族アシリル基、芳香族アシリル基、1～3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基、または、シリル基である、請求項1に記載の化合物及びその塩。

3.  $R_1$  及び  $R_2$  が、同一又は異なって、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、ジメトキシトリチル基、モノメトキシリチル基、または、tert-ブチルジフェニルシリル基である、請求項 1 に記載の化合物及びその塩。
- 5 4.  $R_3$  が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、1～3 個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された 1～3 個のアリール基で置換されたメチル基、シリル基、ホスホロアミダイト基、ホスホニル基、リン酸基、または、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基である、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の化合物及びその塩。
- 10 5.  $R_3$  が、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、tert-ブチルジフェニルシリル基、 $-P(O\text{C}_2\text{H}_4\text{CN})(N(i-\text{Pr})_2)$ 、 $-P(O\text{CH}_3)(N(i-\text{Pr})_2)$ 、ホスホニル基、または、2-クロロフェニルもしくは4-クロロフェニルリン酸基である、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の化合物及びその塩。
- 15 6. A が、直接結合または $-\text{O}-\text{CH}_2-$ （ここで、酸素原子は 4' 位のメチレン基と結合している）である、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の化合物及びその塩。
7. B が、プリン-9-イル基、2-オキソ-ピリミジン-1-イル基、または下記  $\alpha$  群から選択される置換基を有するプリン-9-イル基もしくは2-オキソ-ピリミジン-1-イル基である、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の化合物及びその塩。
- 20  $\alpha$  群：水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、炭素数 1～5 のアルコキシ基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、炭素数 1～5 のアルキルチオ基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、炭素数 1～5 のアルキル基で置換されたアミノ基、炭素数 1～5 のアルキル基、および、ハロゲン原子。
- 25 8. B が、6-アミノプリン-9-イル（即ち、アデニニル）、アミノ基が核酸

合成の保護基で保護された 6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル（即ち、グアニニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、6-メルカプトプリン-9-イル、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、シトシニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロー-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロー-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-ヒドロキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、ウラシニル）、2-オキソ-4-ヒドロキシ-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、チミニル）、4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、5-メチルシトシニル）、または、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された 4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イルである、請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の化合物及びその塩。

9. 下記一般式 (2) で表される化合物及びその塩。



5

(式中、Bは、置換基を有していてもよい芳香族複素環基もしくは芳香族炭化水素環基を示す。

R<sub>5</sub>及びR<sub>6</sub>は、同一又は異なって、水素原子、核酸合成の水酸基の保護基、アルキル基、アルケニル基、シクロアルキル基、アリール基、アラルキル基、アシリル基、シリル基、リン酸基、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基、-P(R<sub>9</sub>)R<sub>10</sub> [式中、R<sub>9</sub>およびR<sub>10</sub>は、同一または異なって、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、アミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、炭素数1～6のシアノアルコキシ基、または、炭素数1～5のアルキル基で置換されたアミノ基を示す。] を示す。)

10. R<sub>5</sub>が、水素原子、脂肪族アシリル基、芳香族アシリル基、1～3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基、または、シリル基である、請求項9に記載の化合物及びその塩。

11. R<sub>5</sub>が、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、ジメトキシトリチル基、モノメトキシトリチル基、又は、*tert*-ブチルジフェニルシリル基である、請求項9に記載の化合物及びその塩。

12. R<sub>6</sub>が、水素原子、脂肪族アシリル基、芳香族アシリル基、1～3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基、シリル基、ホスホロアミダイト基、ホスホニル基、リン酸基、又は、保護されたリン酸基である、請求項9～11のいずれか1項に記載の化合物及びその塩。

13.  $R_6$ が、水素原子、アセチル基、ベンゾイル基、ベンジル基、p-メトキシベンジル基、*tert*-ブチルジフェニルシリル基、-P(OC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>CN)(N(i-Pr)<sub>2</sub>)、-P(OCH<sub>3</sub>)(N(i-Pr)<sub>2</sub>)、ホスホニル基、又は、2-クロロフェニルもしくは4-クロロフェニルリン酸基である、請求項9～11のいずれか1項に記載の化合物及びその塩。

14. Bが、プリン-9-イル基、2-オキソ-ピリミジン-1-イル基、または下記 $\alpha$ 群から選択される置換基を有するプリン-9-イル基もしくは2-オキソ-ピリミジン-1-イル基である、請求項9～13のいずれか1項に記載の化合物及びその塩。

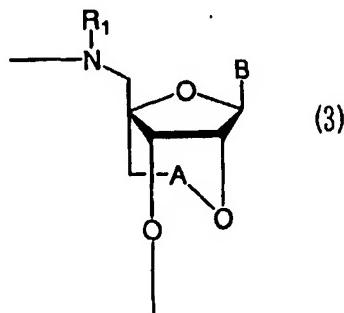
10  $\alpha$ 群：水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、炭素数1～5のアルコキシ基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、炭素数1～5のアルキルチオ基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、炭素数1～5のアルキル基で置換されたアミノ基、炭素数1～5のアルキル基、および、ハロゲン原子。

15. Bが、6-アミノプリン-9-イル（即ち、アデニニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル（即ち、グアニニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、6-メルカプトプリン-9-イル、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（即ち、シトシニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2

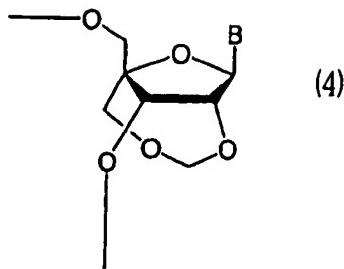
–オキソ–4–アミノ–1, 2–ジヒドロピリミジン–1–イル、2–オキソ–4–アミノ–5–フルオロー–1, 2–ジヒドロピリミジン–1–イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2–オキソ–4–アミノ–5–フルオロー–1, 2–ジヒドロピリミジン–1–イル、4–アミノ–2–オキソ–5–クロロー–1, 5 2–ジヒドロピリミジン–1–イル、2–オキソ–4–メトキシ–1, 2–ジヒドロピリミジン–1–イル、2–オキソ–4–メルカプト–1, 2–ジヒドロピリミジン–1–イル、2–オキソ–4–ヒドロキシ–1, 2–ジヒドロピリミジン–1–イル(即ち、ウラシニル)、2–オキソ–4–ヒドロキシ–5–メチル–1, 2–ジヒドロピリミジン–1–イル(即ち、チミニル)、4–アミノ–5–メチル–2–オキソ–1, 2–ジヒドロピリミジン–1–イル(即ち、5–メチルシトシニル)、または、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4–アミノ–5–メチル–2–オキソ–1, 2–ジヒドロピリミジン–1–イルである、請求項  
10 9～13のいずれか1項に記載の化合物及びその塩。

16. 下記一般式(3)または(4)で表される構造のいずれか1種以上を1  
15 または2個以上含有するオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。但し、これら構造の1種以上を2個以上含有する場合は、当該構造間でB  
は同一または異なる。

20



25



5

(式中、Aは、直接結合、炭素数1～4のアルキレン基、 $-\text{O}-\text{(CH}_2\text{)}_m-$ （ここで、酸素原子は4'位のメチレン基と結合している。mは1～3の整数を示す。）、または、 $-\text{N}(\text{R}_4)-\text{(CH}_2\text{)}_n-$ （ここで、窒素原子は4'位のメチレン基と結合している。nは1～3の整数を示す）を示す。

Bは、置換基を有していてもよい芳香族複素環基もしくは芳香族炭化水素環基を示す。

$\text{R}_1$ 、及び $\text{R}_4$ は、同一又は異なって、水素原子、核酸合成の水酸基の保護基、アルキル基、アルケニル基、シクロアルキル基、アリール基、アラルキル基、アシリル基、シリル基、リン酸基、核酸合成の保護基で保護されたリン酸基、 $-\text{P}(\text{R}_7)\text{R}_8$ 〔式中、 $\text{R}_7$ および $\text{R}_8$ は、同一または異なって、水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、アミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、炭素数1～6のシアノアルコキシ基、または、炭素数1～5のアルキル基で置換されたアミノ基を示す〕。を示す。〕

17. 一般式(3)で表される構造（式中の定義は請求項16におけると同じ意味を表す。）を1または2個以上含有する、請求項16に記載のオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。

18.  $\text{R}_1$ が、水素原子、脂肪族アシリル基、芳香族アシリル基、1～3個のアリール基で置換されたメチル基、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲンもしくはシアノ基でアリール環が置換された1～3個のアリール基で置換されたメチル基、または、シリル基である、請求項17に記載のオリゴヌクレオチド類縁体ま

たはその薬理学上許容される塩。

19. Aが、直接結合または $-O-CH_2-$ （ここで、酸素原子は4'位のメチレン基と結合している）である、請求項17～18のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。

5 20. 一般式(4)で表される構造（式中の定義は請求項16におけると同じ意味を表す。）を1または2個以上含有する、請求項16に記載のオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。

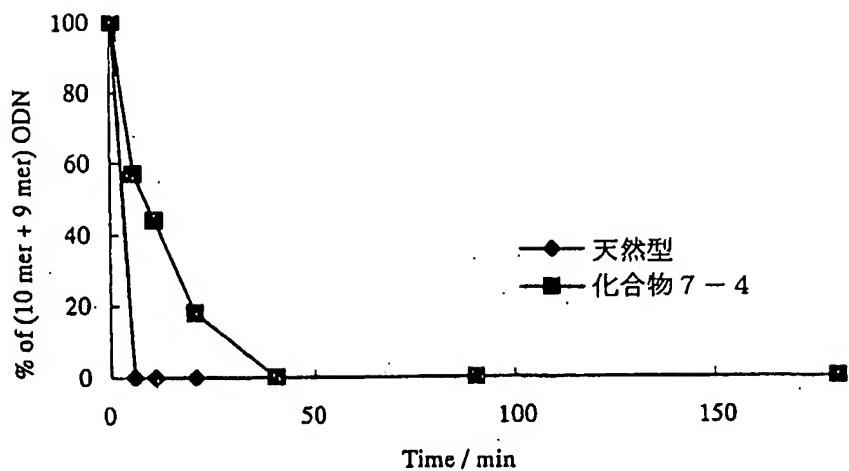
21. Bが、プリン-9-イル基、2-オキソ-ピリミジン-1-イル基、または下記 $\alpha$ 群から選択される置換基を有するプリン-9-イル基もしくは2-オキソ-ピリミジン-1-イル基である、請求項16～20のいずれか1項に記載のオリゴヌクレオチド類縁体またはその薬理学上許容される塩。

$\alpha$ 群：水酸基、核酸合成の保護基で保護された水酸基、炭素数1～5のアルコキシ基、メルカプト基、核酸合成の保護基で保護されたメルカプト基、炭素数1～5のアルキルチオ基、アミノ基、核酸合成の保護基で保護されたアミノ基、炭素数1～5のアルキル基で置換されたアミノ基、炭素数1～5のアルキル基、および、ハロゲン原子。

22. Bが、6-アミノプリン-9-イル（即ち、アデニニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された6-アミノプリン-9-イル、2, 6-ジアミノプリン-9-イル、2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-プロモプリン-9-イル、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル（即ち、グアニニル）、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、6-メル

カプトプリン-9-イル、2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、シトシニル)、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロー-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された2-オキソ-4-アミノ-5-フルオロー-1,  
5 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、4-アミノ-2-オキソ-5-クロロー-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシー-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-ヒドロキシー-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、ウラシニル)、2-オキソ-4-ヒドロキシー-5-メチル-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、チミニル)、4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル(即ち、5-メチルシトシニル)、または、アミノ基が核酸合成の保護基で保護された4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イルである、請求項  
10 16～20のいずれか1項に記載のオリゴスクレオチド類縁体またはその薬理学  
15 上許容される塩。

図 1



## 配列表

<110> Imanishi Takeshi

<120> Nucleoside Analogue and Oligonucleotide Analogue containing the Same

<130> I-352-11

5 <160> 16

<210> 1

<211> 10

<212> DNA

10 <213> Artificial Sequence

<220>

<221> modified\_base

<222>

<223> Antisense

15 <400> 1

tttttnnnnn

<210> 2

<211> 10

20 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> modified\_base

25 <222>

<223> Antisense

<400> 2

tnnnnnnnnnnt

<210> 3  
<211> 10  
<212> DNA  
5 <213> Artificial Sequence

<220>  
<221> modified\_base  
<222>  
10 <223> Antisense  
<400> 3

ttttntntnt

<210> 4  
15 <211> 10  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<221> modified\_base  
20 <222>  
<223> Antisense  
<400> 4

tttttttnt

25 <210> 5  
<211> 10  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>

<221> modified\_base

<222>

<223> Antisense

5 <400> 5

tntttttt

<210> 6

<211> 16

10 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> modified\_base

<222>

15 <223> Antisense

<400> 6

tcttccttnttctctct

<210> 7

20 <211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> modified\_base

25 <222>

<223> Antisense

<400> 7

tcttcnnntctctct

<210> 8  
<211> 16  
<212> DNA  
5 <213> Artificial Sequence

<220>  
<221> modified\_base  
<222>  
<223> Antisense

10 <400> 8

tcttcnntnctctct

<210> 9  
<211> 16  
15 <212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220>  
<221> modified\_base  
<222>  
20 <223> Antisense  
<400> 9

tcttcnnnnnctctct

<210> 10  
25 <211> 15  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220>

<221> modified\_base

<222>

<223> Antisense

<400> 10

5           ttttctntctctct

<210> 11

<211> 12

<212> DNA

10 <213> Artificial Sequence

<220>

<221> modified\_base

<222>

<223> Antisense

15 <400> 11

ttttttttttt

<210> 12

<211> 12

20 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> modified\_base

<222>

25 <223> Antisense

<400> 12

tttttnnnnn

<210> 13

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

5 <220>

<221> modified\_base

<222>

<223> Antisense

<400> 13

10 tttttntntttt

<210> 14

<211> 12

<212> DNA

15 <213> Artificial Sequence

<220>

<221> modified\_base

<222>

<223> Antisense

20 <400> 14

ntttttntntttt

<210> 15

<211> 12

25 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> modified\_base

<222>

<223> Antisense

<400> 15

tttttnnnntttt

5

<210> 16

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10 <220>

<221> modified\_base

<222>

<223> Antisense

<400> 16

15 nnnnnnnnnnnnnn

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/01485

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C07H19/16, 19/06, 21/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C07H19/00-21/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

REGISTRY (STN), CAplus (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 01/07455 A1 (Sankyo Co., Ltd.), 01 February, 2001 (01.02.01), & JP 2001-89496 A & AU 200063135 A & BR 200012646 A & NO 200200305 A & EP 1201678 A1 & CZ 200200132 A3 & HU 200202812 A2 & CN 1376161 A & KR 2002092894 A	1-22
A	EP 1152009 A1 (Sankyo Co., Ltd.), 07 November, 2001 (07.11.01), & WO 00/47599 A1 & JP 2000-297097 A & AU 200024598 A & AU 758956 B & NO 200103899 A & CZ 200102574 A3 & BR 200008131 A & HU 200105367 A2 & KR 2002013498 A & CN 1347418 A & US 2002/0147332 A1 & ZA 200106544 A & MX 2001008145 A1	1-22

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

"A"	Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier document but published on or after the international filing date	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&"	document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search 20 May, 2003 (20.05.03)	Date of mailing of the international search report 17 June, 2003 (17.06.03)
--	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP03/01485

**C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 1013661 A1 (IMANISHI, Takeshi), 28 June, 2000 (28.06.00), & WO 98/39352 A1 & JP 10-304889 A & AU 9861209 A & AU 720472 B & AU 200053349 A & AU 742476 B & US 6268490 B1	1-22

## A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int. Cl' C07H19/16, 19/06, 21/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

Int. Cl' C07H19/00-21/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

REGISTRY (STN) CAPplus (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 01/07455 A1 (三共株式会社) 2001.02.01 & JP 2001-89496 A & AU 200063135 A & BR 200012646 A & NO 200200305 A & EP 1201678 A1 & CZ 200200132 A3 & HU 200202812 A2 & CN 1376161 A & KR 2002092894 A	1-22

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

20. 05. 03

国際調査報告の発送日

17.06.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

内田俊生

4P 8214



電話番号 03-3581-1101 内線 3492

C(続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	EP 1152009 A1 (SANKYO COMPANY, LIMITED) 2001.11.07 & WO 00/47599 A1 & JP 2000-297097 A & AU 200024598 A & AU 758956 B & NO 200103899 A & CZ 200102574 A3 & BR 200008131 A & HU 200105367 A2 & KR 2002013498 A & CN 1347418 A & US 2002/0147332 A1 & ZA 200106544 A & MX 2001008145 A1	1-22
A	EP 1013661 A1 (IMANISHI, TAKESHI) 2000.06.28 & WO 98/39352 A1 & JP 10-304889 A & AU 9861209 A & AU 720472 B & AU 200053349 A & AU 742476 B & US 6268490 B1	1-22